

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Preeklampsia merupakan salah satu penyebab utama mortalitas dan morbiditas pada maternal dan neonatal di seluruh dunia. Preeklampsia adalah hipertensi (tekanan darah sistolik ≥ 140 mmHg dan diastolik ≥ 90 mmHg) disertai proteinuria (> 30 mg/liter urin atau ≥ 300 mg/24 jam) dan terjadi sesudah usia kehamilan lebih dari 20 minggu, dimana pada preeklampsia terjadi gangguan berbagai sistem yang mempengaruhi fungsi vaskuler ibu dan pertumbuhan janin (Padmini 2011).

Etiologi preeklampsia sampai saat ini masih belum diketahui secara pasti. Sehingga langkah pencegahan dan alat skrining kurang, perawatan diarahkan pada manajemen manifestasi klinis yang jelas, dan persalinan tetap menjadi terapi pilihan (Mandy, 2010).

Preeklampsia merupakan satu dari tiga penyebab utama kematian ibu didunia. Preeklampsia menyebabkan kegagalan beberapa organ. Salah satu penyebab preeklampsia yaitu adanya gangguan plasentasi. Banyak penelitian yang bertujuan untuk mengevaluasi beberapa faktor risiko preeklampsia yaitu primigravida, obesitas, diabetes, hipertensi dan multiparitas. Dan beberapa penelitian menunjukkan morbiditas dan mortalitas yang lebih tinggi pada preeklampsia *early onset* dibandingkan dengan *late onset* (Adisorn,2013).

Data di RSUD dr.Moewardi Surakarta jumlah persalinan pada tahun 2012 sebanyak 5406 persalinan, didapatkan 1310 persalinan oleh karena preeklampsia berat dengan jumlah kematian ibu hamil oleh preeklampsia 9 dari 15 ibu hamil yang meninggal (Rustam, 2013).

Preeklampsia berdasarkan onsetnya dibagi menjadi 2 yaitu *early onset* preeklampsia (preeklampsia yang terjadi sebelum usia kemilan 34 minggu) dan *late onset* preeklampsia (preeklampsia yang terjadi sesudah usia kehamilan 34 minggu) (Grill, 2009).

Preeklampsia *early onset* prevalensinya 5-20%. Pada preeklampsia *early onset* ditemukan invasi trofoblas yang tidak adekuat, pulsatil indeks pada pemeriksaan *doppler* meningkat, terjadi peningkatan resistensi perifer pembuluh darah plasenta, sistolik dan diastolik arteriumbilikalis yang meningkat. Walaupun persentasinya lebih kecil dari *late onset*, pada *early onset* preeklampsia mempunyai *outcome* ibu maupun janin yang lebih jelek seperti pada ibu dengan sindrom *HELLP* dan eklampsia, juga pada bayi dapat terjadi persalinan prematur, *intra uterine growth factor* sampai meninggal (Huppertz, 2008).

Preeklampsia *early onset* memberikan kontribusi 15% dari kelahiran preterm di Amerika Serikat per tahun dan meningkatkan risiko terjadinya penyakit pembuluh darah di kemudian hari. Ibu dan bayi berada dalam kondisi yang paling berisiko pada kehamilannya. Terjadi peningkatan 20 kali lipat resiko kematian ibu dan beberapa kali lipat resiko mortalitas dan morbiditas untuk bayinya, tergantung usia kehamilan saat melahirkan dan adanya hambatan pertumbuhan pada janin (Christoper,2010).

Kehamilan adalah suatu hasil proses kompleks dari sistem imun fetus dan sistem imun ibu. Meskipun plasenta merupakan suatu barier antara sirkulasi maternal dan fetal, tetapi fetal alloantigen tetap dapat mencapai sirkulasi maternal. Keberhasilan suatu sistem toleransi imun ini akan dapat mempertahankan kelangsungan proses embryogenesis sampai mencapai kehamilan aterm yang normal. Embrio sendiri merupakan suatu benda asing bagi tubuh maternal, sehingga uterus yang merupakan organ tempat kehamilan itu berlangsung tentu memiliki peranan yang sangat penting dalam penerimaan embrio (Sumapraja K, 2008).

Pada manusia, adanya defek pada penghubung antara janin dan ibu dalam hal ini trofoblas berkaitan dengan berbagai macam penyulit kehamilan seperti preeklampsia, pertumbuhan janin terhambat dan kegagalan hasil konsepsi seperti *blighted ovum*, abortus habitualis serta kematian janin dalam kandungan (Sulistiyowati, 2010).

Salah satu keberhasilan proses kehamilan ditentukan oleh janin yang bersifat semiallogenik, yang mempunyai kemampuan untuk menghindari sistem imunmaternal. Konsep ini pertama kali dikemukakan oleh Sir Peter Medawar seorang ahli imunologi. Mekanisme menghindari oleh embrio ini belum diketahui dengan pasti. Belakangan ini molekul *Human Leucocyte Antigen* (HLA), khususnya HLA-E, banyak dipelajari untuk mengetahui mekanisme toleransi sistem imun maternal terhadap janin. Bahkan dikatakan bahwa keberhasilan suatu kehamilan tergantung pada ekspresi molekul ini (Hviid, 2006).

HLA-E memegang peran penting dalam toleransi imun semialogenik janin oleh ibu. HLA-E yang cukup pada trofoblas menyebabkan tidak terjadinya respon imunologis ibu (Hunt, 2006).

Janin yang merupakan semi-alogenik bagi sistem imun maternal ini berisiko tinggi untuk dianggap asing dan disingkirkan, namun tidak demikian kenyataannya dalam kehamilan normal. Sitotrofoblas yang melakukan invasi ke sisi maternal, pada saat mendekati desidua mengekspresikan HLA-E. Molekul HLA-E mempunyai kemampuan untuk menghambat respon sitolitik dari limfosit T sitotoksik dan aktivitas sel NK melalui reseptor CD94/NKG2A yang terdapat di endometrium (Tripathi, 2007).

Sel *Natural Killer* (NK) merupakan jenis limfosit dengan ukuran besar yang mengandung banyak granula di dalam sitoplasmanya (LGL). Sel NK desidua maternal memproduksi sebuah kombinasi sitokin yang terlibat dalam stabilitas angiogenesis dan valar, seperti *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *placental growth factor* (PLGF) (Moffett, 2007).

Natural Killer cell (NK Cell) memiliki peran penting terhadap proses kehamilan. Sel NK melalui reseptor CD94/NKG2C dapat menyerang sel target. Sel NK pada uterus dapat diaktifkan melalui reseptor CD94/NKG2C yang dapat mengikat HLA-E telah terbukti berhubungan dengan proses imunologi pada preeklampsia (Fukui, 2012).

Janin mengekspresikan gen ayah yang bersifat semialogenik sebagai bentuk kompensasi terhadap ibunya. HLA-E merupakan molekul dengan polimorfisme rendah dan ekspresinya terbatas pada trofoblas ekstravilus, Ekspresi HLA-E yang

berkurang tersebut menjadikan trofoblas invasif lebih mudah terkena serangan dari sel NK yang berikatan melalui reseptor CD94/NKG2C, sehingga akan menghambat invasi trofoblas pada tempat terjadinya hubungan sirkulasi uteroplasenta dan mengakibatkan invasi trofoblas yang dangkal dan rapuh serta penyempitan arteri spiralis yang dapat menyebabkan terjadinya preeklampsia (Chaouat, 2007).

Pada penelitian ini akan meneliti tentang perbedaan ekspresi HLA-E dan sel NK pada preeklampsia *early onset* dibandingkan kehamilan normal, sehingga dapat memprediksi secara dini.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan masalah penelitian, yaitu :

1. Apakah terdapat perbedaan ekspresi protein HLA-E di trofoblas pada preeklampsia berat *early onset* dibandingkan dengan kehamilan normal ?
2. Apakah terdapat perbedaan ekspresi sel NK di trofoblas pada preeklampsia berat *early onset* dibandingkan dengan kehamilan normal ?

C. Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Tujuan Umum

Untuk mengetahui Perbedaan ekspresi HLA-E dan NK cell pada preeklampsia berat *early onset* dan kehamilan normal.

2. Tujuan Khusus

- a. Untuk menganalisis ekspresi protein HLA-E dalam trofoblas pada penderita preeklampsia berat *early onset* dan kehamilan normal.
- b. Untuk menganalisis ekspresi protein sel NK dalam trofoblas pada penderita preeklampsia berat *early onset* dan kehamilan normal.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Teoritis

Menambah dan mengembangkan informasi ilmiah tentang etiopatogenesis terjadinya preeklampsia berat *early onset* guna menurunkan angka morbiditas dan mortalitas ibu dan bayi yang disebabkan oleh preeklampsia berat.

2. Manfaat Klinis

Merupakan upaya bagi kemajuan diagnosis preeklampsia berat *early onset* antara lain dengan adanya prediktor mulai dari awal kehamilan untuk pencegahan maupun pengobatan preeklampsia di masa mendatang, sehingga diharapkan dapat ikut memberi masukan dalam menurunkan morbiditas dan mortalitas ibu yang disebabkan oleh preeklampsia berat.

3. Manfaat Kedokteran Keluarga

Ekspresiprotein HLA-E dan proteinsel NK dalam tropoblas sebagai salah satu prediktor proses preeklampsia berat *early onset*, dapat dijadikan salah satu wacana dokter keluarga dalam pencegahan terjadinya preeklampsia berat *early onset*.

E. Keaslian Penelitian

Penelitian ini pernah dilakukan sebelumnya di Amerika dengan judul *Exspression of the nonclassic Histocompatibility Antigen by Preeclamptic Placenta* (Colbern,1994), dan di jepang *Changes NK Cell and Preeclampsia* (Fukui, 2012). Sejauh penelusuran peneliti, belum pernah ada penelitiandi dunia

yang meneliti ekspresi *Human Leucocyte Antigen-E (HLA-E)* dan *Nature Killer Cell (NK Cell)* pada preeklampsia *early onset*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Preeklampsia Berat *early onset*

1. Definisi

Preeklampsia didefinisikan dengan adanya hipertensi dimana tekanan darah sistolik ≥ 140 mmHg dan tekanan darah diastolik ≥ 90 mmHg yang diukur dua kali dengan selang waktu 4-6 jam, menetap sekurang-kurangnya selama 7 hari, disertai proteinuria (≥ 30 mg/liter urin atau ≥ 300 mg/24 jam) yang didapatkan setelah umur kehamilan 20 minggu, dan semua kelainan ini akan menghilang sebelum 6 minggu post partum (Jennifer *et al*, 2011).

Penyebab preeklampsia berat belum sepenuhnya diketahui, berbagai komplikasi preeklampsia terhadap ibu dapat berupa gagal ginjal akut, eklampsia, edema paru, penyakit hepar akut, hemolisis dan trombositopenia. Tiga tanda yang terakhir disebutkan muncul bersama-sama sebagai bagian dari sindroma HELLP (*haemolysis, elevated liver enzymes and low platelets*). Komplikasi terhadap janin meliputi prematuritas, gangguan perkembangan janin, oligohidramnion, dan solusio plasenta (Ahmed *et al*, 2011).

Preeklampsia merupakan gangguan multiorgan, dibagi menjadi 2 tahap patofisiologi di manaplasentasi yang abnormal lalu diikuti oleh kegagalan sel endotel secara umum. Preeklampsia adalah penyakit heterogen, dan perbedaan utama, yaitu pada *early onset* preeklampsia di mana lebih agresif untuk ibu dan bayi. Pada pemeriksaan doppler, memiliki hubungan yang lebih berkaitan dengan

preeklampsia *early onset* dari pada *late onset*. Karena itu tampaknya penting bahwa untuk mempertimbangkan bahwa *early* dan *late onset* sebagai bentuk dua entitas yang berbeda ketika kita mempelajari preeklampsia (Anna *et al*, 2007).

2. Prevalensi

Kejadian preeklampsia sebesar 4,4-17,5% dari ibu hamil. Pada primipara 3-7 % dan multipara 1-3 % (Carty *et al*, 2010) di negara berkembang 16 % dari kematian maternal disebabkan preeklampsia, kematian maternal lain disebabkan perdarahan 13 %, abortus 8 %, dan sepsis 2 % (Khan *et al*, 2006).

Di Indonesia angka kejadian preeklampsia 3-10% dan memberikan kontribusi sebesar 39,5% pada angka kematian ibu pada tahun 2001 dan meningkat tajam menjadi 55,56% pada tahun 2002. Di RSUD Dr. Moewardi Surakarta kematian ibu hamil yang disebabkan oleh preeklampsia adalah 25 ibu hamil dari 37 ibu hamil yang meninggal dari 1956 persalinan pada tahun 2008 (Sulistyowati, 2010).

3. Faktor Risiko

Beberapa faktor yang dianggap berperan pada kejadian preeklampsia adalah gen, plasenta, respon imun, dan penyakit vaskular pada ibu. Sejumlah faktor preeklampsia yang telah diketahui mengalami perkembangan. Preeklampsia umumnya diketahui sebagai penyakit pada kehamilan pertama karena risiko terjadinya preeklampsia lebih rendah pada wanita yang telah melahirkan sebelumnya. Pada primigravida risiko preeklampsia 4 sampai 5 kali lebih tinggi dibandingkan pada multiparitas. Wanita usia ≥ 40 tahun mempunyai risiko preeklampsia sebesar dua kali baik pada primigravida maupun multipara.

Berdasarkan data *Nationwide US* diduga bahwa risiko preeklampsia meningkat sebesar 30% pada setiap penambahan usia setelah 34 tahun. Beberapa penelitian epidemiologi berpendapat bahwa kehamilan preeklampsia mempunyai risiko mengalami preeklampsia kembali sekitar 7 kali. Riwayat preeklampsia pada keluarga juga menjadi faktor risiko (Arusyak, 2009).

Faktor risiko preeklampsia termasuk mutli-paritas, kehamilan kembar, riwayat preeklampsia, obesitas, diabetes melilitus, gangguan pembuluh darah dan jaringan ikat seperti lupus eritematosus dan antibodi antifosfolipid, usia > 35 tahun pada kehamilan pertama, merokok, dan ras Afrika-Amerika. Di antara perempuan primipara, ada perbedaan antara kelompok etnis terhadap risiko pada wanita Afrika Amerika yang dua kali lipat dari wanita ras Kaukasia, dan risikonya juga sangat tinggi pada wanita yang berasal dari India dan Pakistan. Hubungan antara faktor-faktor risiko pada preeklampsia ini kurang dipahami. Perbedaan risiko antara kelompok etnis menunjukkan peran genetik yang kuat dalam patogenesis preeklampsia (Elosha *et al*, 2012).

Pada penelitian Cohort oleh Matsubara *et al* (2009) Nulliparitas juga merupakan faktor risiko preeklampsia sebesar 64% dan 36% pada multipara mempunyai risiko menjadi preeklampsia berat.

Obesitas dengan Indeks Massa Tubuh (IMT) lebih dari 25 pada awal kehamilan akan mengalami hipertensi dibandingkan dengan yang IMT-nya lebih rendah, tetapi belum tentu menjadi baik hipertensi gestasional maupun preeklampsia (Noori *et al*, 2007). Mekanisme obesitas dapat menimbulkan preeklampsia masih belum jelas dimengerti. Obesitas memiliki hubungan yang

kuat dengan adanya resistensi insulin, merupakan faktor predisposisi diabetes melitus tipe II dan diabetes gestasional. Baik obesitas maupun diabetes berkaitan dengan risiko tinggi terjadinya penyakit kardiovaskuler, dan begitu juga dengan preeklampsia. Hiperinsulinemia secara langsung sebagai faktor predisposisi terjadinya hipertensi akibat meningkatnya penyerapan sodium di ginjal dan menyebabkan stimulasi dari sistem saraf simpatis (Cnossen *et al*, 2007).

Kehamilan multipel mempunyai dua kali risiko mengalami preeklampsia. Sedangkan diabetes melitus pragestasional juga merupakan faktor risiko lain untuk preeklampsia; insidensinya berkisar antara 9% sampai dengan 66% pada wanita dengan riwayat diabetik nefropati. Besarnya masa plasenta baik pada kehamilan multipel maupun kehamilan dengan diabetes merupakan sebab masalahnya (Noori *et al*, 2007).

Wanita yang memiliki tekanan darah sistolik atau diastolik relatif tinggi sebelum kehamilan 20 minggu, meningkatkan risiko preeklampsia. Sebagai contoh, pada penelitian terhadap 13.000 kehamilan trimester pertama dengan tekanan darah sistolik 130 mmHg atau lebih, akan mempunyai kemungkinan empat kali menjadi preeklampsia dibandingkan dengan wanita dengan tekanan sistolik lebih rendah dari 110 mmHg. Tekanan darah diastolik dilaporkan pengaruhnya sebagai faktor risiko lebih lemah dibandingkan tekanan darah sistolik (Noori *et al*, 2007).

4. Patofisiologi

Patogenesis preeklampsia sangat kompleks karena melibatkan beberapa faktor genetik, imunologi, dan faktor lingkungan yang saling berinteraksi. Patogenesis preeklampsia secara umum terdiri dari dua tahapan proses. Tahap

pertama merupakan tahap asimtomatik yang ditandai perkembangan plasenta yang abnormal selama trimester I yang mengakibatkan insufisiensi plasenta dan pelepasan beberapa material plasenta ke dalam sirkulasi maternal. Tahap kedua yaitu tahap simtomatik atau sindrom maternal yang ditandai oleh hipertensi, gangguan ginjal, dan proteinuria (Karumanchi *et al.* 2008).

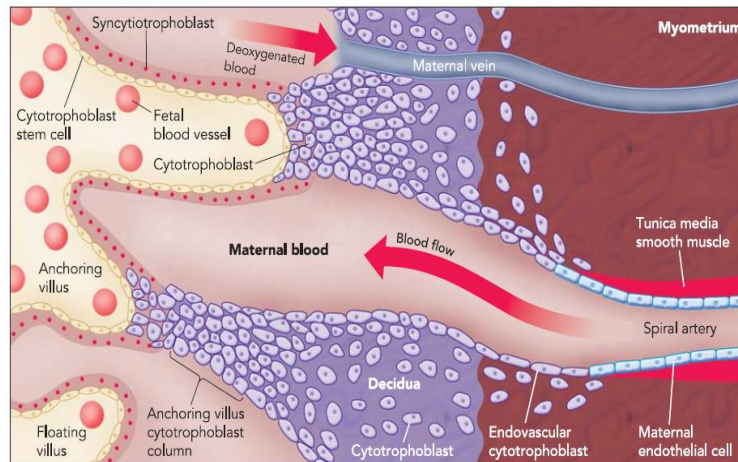
Pada kehamilan normal, proliferasi trofoblas saat invasi ke desidua dan miometrium pada saat implantasi terjadi melalui dua tahap :

1. Sel-sel trofoblas endovaskuler menginvasi arteria spiralis maternal sehingga terjadi pergantian sel-sel endotel dan terjadi kerusakan jaringan muskulo-elastik dinding arteri dan mengganti dinding arteri dengan maternal fibrinoid.

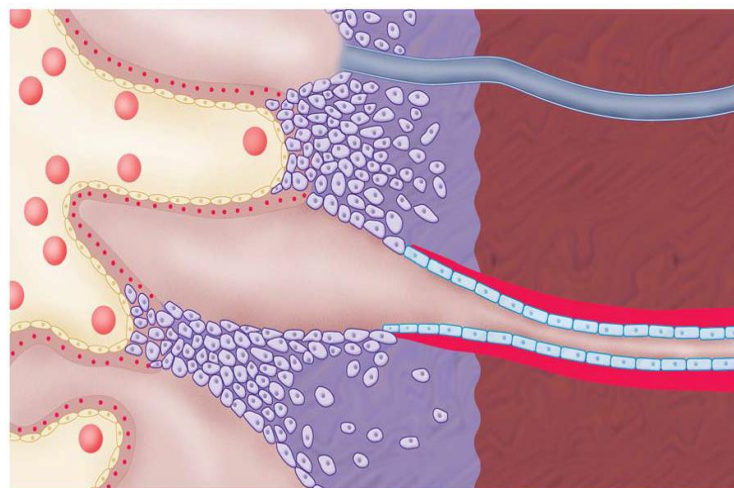
2. Terjadi invasi tahap kedua yaitu masuknya sel-sel trofoblas kedalam lumen arteria spiralis sampai dalam miometrium. Selanjutnya proses seperti tahap pertama kemudian terjadi lagi penggantian endotel, kerusakan jaringan muskuloelastik dan perubahan fibrinoid dinding arteri (Cartwright *et al.*, 2010).

Ketidakefektivan invasi dari sel sitotrofoblas pada arteri spiralis preeklampsia telah lama diteliti. Penelitian terakhir menunjukkan bahwa invasi sel sitotrofoblas pada preeklampsia terjadi kelainan. Kelainan tersebut mungkin berkaitan dengan jalur nitrit oksida, yang memberikan kontribusi substansial untuk mengontrol tekanan vaskuler. Selain nitrit oksida, adanya stres oksidatif memacu pelepasan dari radikal bebas, lipid oksida, sitokin dan sFlt-1. Hal tersebut mengakibatkan disfungsi endotel dengan hipermeabilitas vaskuler, trombofilia dan hipertensi (Jennifer *et al.*, 2011).

Pada implantasi normal, arteri spiralis mengalami remodeling ekstensif karena diinvasi oleh trofoblas endovaskuler. Sel-sel ini menggantikan lapisan otot dan endotel untuk memperlebar diameter pembuluh darah. Invasi sitotrofoblas menempati lapisan endotel pada arteri spiralis ibu, mengalami transformasi dari pembuluh darah kecil dengan resistensi tinggi menjadi pembuluh darah dengan kapasitas kapiler tinggi, sehingga dapat memenuhi perfusi plasenta yang adekuat untuk pertumbuhan janin. Pada preeklampsia, transformasi ini berjalan tidak sempurna. Sitotrofoblas menginvasi arteri spiralis hanya terbatas pada desidua superfisial dan segmen terbatas pada area miometrium. Hal ini menunjukkan pada perkembangan kehamilan normal invasi sitotrofoblas di arteri spiralis menyebabkan *down regulasi* sel trofoblas yang akan mengadopsi fenotip sel endotel plasenta. Proses ini dikenal sebagai proses vaskulogenesis, sedangkan pada preeklampsia, sitotrofoblas tidak mengalami proses vaskulogenesis (Wang *et al*, 2009).



Gambar 1. Trofoblas menginvasi desidua secara adekuat pada kehamilan normal (Wang *et al*,2009).



Gambar 2. Trofoblas menginvasi desidua tidak adekuat dan terjadi gangguan pembentukan arteri spiralis (Wang *et al*,2009).

Dengan invasi dangkal tersebut, pembuluh darah desidua, namun bukan pembuluh darah miometrium, menjadi dilapisi dengan trofoblas endovaskuler. Semakin dalam arteriol miometrium tidak kehilangan lapisan endotel dan jaringan muskuloelastik, dan diameter luar rata-rata nya hanya setengah dari pembuluh

darah pada placenta. Madazli dan rekan menunjukkan bahwa besarnya invasi trofoblas rusak dari arteri spiralis berkorelasi dengan keparahan gangguan hipertensi (Cunningham *et al*, 2010).

Defek plasenta yang spesifik dihubungkan dengan terjadinya preeklamsia. Kasus terburuk terjadi pada trimester II dan awal trimester III. Villi yang menyokong keberadaan sel sitotrofoblas invasif juga ikut terpengaruh. Invasi trofoblas kedalam parenkim uterus masih bervariasi namun muncul kadang-kadang. Invasi endovaskuler pembuluh darah bersifat rudimenter atau sementara sehingga sulit sekali untuk menemukan sel sitotrofoblas di dinding pembuluh darah uterus. Defek anatomis ini menunjukkan bahwa terdapat abnormalitas direfensiasi sel sitotrofoblas dalam preeklamsia. Biopsi pada dinding uterus wanita dengan sindrom preeklamsia memperlihatkan bahwa sel sitotrofoblas yang invasif menahan ekspresi dari reseptor adhesi yang merupakan karakteristik dari sel progenitor dan gagal untuk mengaktifkan reseptor tersebut untuk mengadakan invasi atau kontak dengan fenotip endotelial (Sulistyowati, 2010).

Akhir dari proses ini adalah pembuluh darah yang berdinding tipis, lemas dan berbentuk seperti kantung yang memungkinkan terjadinya dilatasi secara pasif untuk menyesuaikan dengan kebutuhan aliran darah yang meningkat. Pada preeklampsia berat proses implantasi ini tidak berjalan sebagaimana mestinya, keadaan ini disebabkan oleh karena tahap pertama invasi sel trofoblas secara normal tapi invasi tahap kedua tidak berlangsung sehingga bagian arteri spiralis yang berada dalam miometrium tetap mempunyai dinding muskuloelastik sehingga terjadi resistensi vaskular dan arteriosis akut pada arteri spiralis yang

dapat menyebabkan lumen arteria bertambah kecil atau bahkan dapat mengalami obliterasi pada preeklampsia berat terjadi penyempitan lumen arteria spiralis dan juga terjadi penurunan perfusi plasenta 2-3 kali lebih rendah (Guleria *et al.*, 2007).

Pengukuran langsung terhadap aliran darah intervili dengan studi radioaktif menunjukkan berkurangnya perfusi plasenta pada preeklampsia. Velosimetri doppler dari pembuluh darah uterus menunjukkan peningkatan resistensi dalam pembuluh darah yang memasok ruang intervili dari wanita dengan preeklampsia, dan pada awal gestasi dari wanita dengan resiko preeklampsia (Antsaklis *et al.*, 2010).

Apoptosis plasenta kemungkinan besar merupakan jalur akhir dari mekanisme tersebut. Apoptosis mengakibatkan pelepasan mikrofragmen sincitiotrofoblas ke dalam sirkulasi maternal, yang meningkat pada preeklampsia (Sharp *et al.*, 2010).

Patofisiologi yang dapat menjelaskan mekanisme yang mengakibatkan perkembangan preeklampsia antara lain (Barton *et al.*, 2008) :

1. Gangguan diferensiasi dan invasi trofoblas ke arteri spiralis
2. Disfungsi endotel terhadap antigen paternal
3. Maladaptasi imunitas terhadap antigen paternal
4. Respon inflamasi sistemik.

Pada preeklampsia *early onset* kerusakan endotel oleh karena abnormalitas plasenta, sedangkan preeklampsia *late onset* oleh karena adanya sindrom maternal dan bukan oleh karena abnormalitas plasenta (Anna *et al.*, 2007).

Perubahan patologis pada wanita dengan eklampsia menampilkan seluruh perubahan yang konsisten dengan perfusi yang sangat berkurang. Dalam hati dan adrenal, perfusi yang berkurang ditandai dengan infark, nekrosis dan perdarahan intraparenkim. Nekrosis endokardium timbul di jantung, bersama dengan munculnya syok hipovolemik. Perubahan patologis dalam ginjal disebut dengan endoteliosis glomerulus dan terdiri atas pembengkakan sel endotel glomerulus yang akan menyumbat lumen kapiler. Keterlibatan endotel merupakan poin yang menunjukkan bahwa jaringan tersebut merupakan target yang penting pada gangguan tersebut. Aliran darah uterus yang berkurang selanjutnya mengurangi perfusi plasenta, mengakibatkan manifestasi klinis dari preeklampsia sehingga preeklampsia merupakan penyakit yang tidak akan bisa sembuh, namun hanya akan bertambah buruk, dan perburukan tersebut terjadi dengan cepat (Robert, 2005).

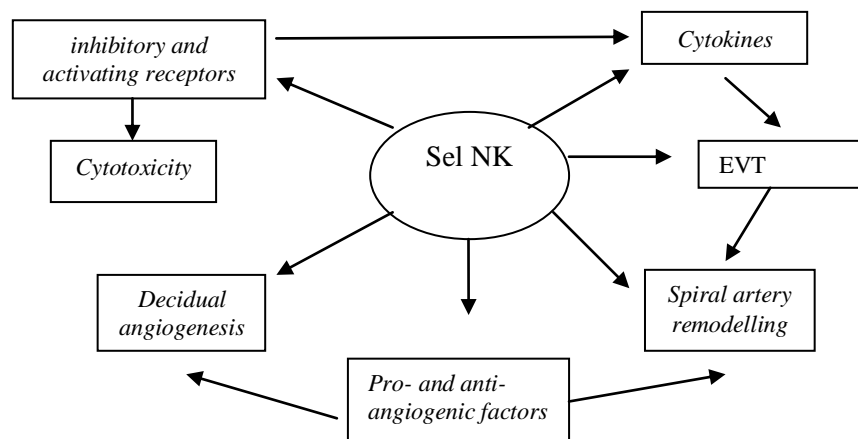
Perfusi turun akibat adanya vasospasme, aktivasi kaskade koagulasi dengan pembentukan mikrotrombus oklusif dan kehilangan cairan dari ruang intravaskular. Vasospasme bukan akibat adanya peningkatan tekanan. Hal tersebut lebih disebabkan oleh wanita dengan preeklampsia yang sangat sensitif akan tiap tekanan yang muncul. Peningkatan sensitivitas tekanan, dan hilangnya integritas vaskular tampak terlihat dalam kelompok wanita sebelum timbul manifestasi klinis preeklampsia. Hal tersebut memunculkan suatu konsep bahwa disfungsi endotel yang dapat menjelaskan seluruh perubahan yang terjadi, merupakan tanda patofisiologis penting dari preeklampsia (Hladunewich *et al*, 2007).

Hipotesis tersebut juga didukung oleh perubahan vasodilatasi yang diperantarai endotel, ketika pembuluh darah dari beberapa tempat dari wanita dengan preeklampsia diperiksa secara *ex vivo*. Sejumlah penanda adanya kerusakan endotel ditemukan pada wanita dengan preeklampsia dan dalam banyak kasus mendahului bukti klinis yang muncul (Van der Graaf *et al*, 2013).

Salah satu teori yang berkaitan dengan terjadinya preeklampsia berat adalah faktor imunologi dimana hipotesis yang ada yaitu bahwa gangguan imunologis menyebabkan invasi plasenta yang abnormal yang menyebabkan turunnya perfusi plasenta. Perfusi yang abnormal tersebut dipicu oleh produksi sitokin inflamasi yang mengaktivasi atau merusak sel endotel. Implantasi fetoplasenta ke permukaan miometrium membutuhkan beberapa elemen, yaitu toleransi imunologi antara fetoplasental dan maternal. Pertumbuhan trofoblas yang akan melakukan invasi ke dalam lumen arteria spiralis dan pembentukan sistem pertahanan sistem imun(Dimitriadis *et al*, 2010).

Komponen fetoplasental yang melakukan invasi ke miometrium melalui arteria spiralis secara imunologi akan menimbulkan dampak adaptasi atau maladaptasi yang sangat penting dalam proses kehamilan. Maladaptasi ini disebabkan karena fetoplasental mengandung lebih dari 50% antigen paternal dari suami. Antigen paternal akan mengaktifkan *Human Leucocyte Antigen* (HLA-E) sehingga pada saat trofoblas invasi ke dalam sistem imun maternal akan menimbulkan suatu respon imunologis dari sisi maternal sehingga membuat suatu antibodi sebagai suatu *Anti-Paternal Cytotoxic Antigen* (APC antigen) yang seharusnya berfungsi untuk tidak menghancurkan kehamilan tersebut

yang secara imunologis janin dan trofoblas menjadi suatu semi allograft (membawa gen ayah) yang akan memberikan reaksi autoimune, sehingga terbentuk suatu maladaptasi imun antara fetoplasental dengan sisi maternal (Guleria *et al*, 2007).



Gambar 3. Pengaturan sel NK pada proses plasentasi dan remodeling arteri spiral(Cartwright *et al*, 2010)

Selama proses kehamilan akan berkembang menjadi suatu sistem imun yang melakukan adaptasi terhadap antigen janin dengan maternal melalui 2 sistem yaitu sistem imunitas humoral dan sistem *cell mediated immunity*. Cell mediated immunity akan menghasilkan sel T helper yaitu Th1 dan Th2 yang akan sangat berperan dalam aktifitas sel-sel makrofag untuk mengaktifkan sel NK dengan sitokin-sitokin dalam proses kehamilan. Penyimpangan adaptasi pada sistem imunitas akan menyebabkan suatu maladaptasi dari sistem imun maternal yang secara klinis akan menyebabkan preeklamsia berat (Saito *et al*, 2010).

Ditemukan bahwa sel trofoblas yang memiliki kontak dengan darah maternal ternyata negatif untuk antigen HLA kelas I dan HLA kelas II, meskipun bagi yang memiliki kontak dengan jaringan maternal sering positif untuk HLA kelas I. Oleh karena itu pada trimester pertama sinsitiotrofoblas dan noninvasif vilus sitotrofoblas tidak muncul sebagai alloantigen untuk HLA-E, tetapi ekstrasitotrofoblas pada ujung kolumna sel dan arteri spiralis positif terhadap HLA-E (Hviid, 2006).

Secara kontras, HLA-E hanya terekspresi pada trofoblas ekstrasitotrofoblas pada maternal *interface*, dimana tidak ada antigen klasik kelas I dan II; ekspresi yang terbatas ini diperkirakan bahwa HLA-E berperan pada toleransi imun dari semiallogenik fetus dari pihak maternal HLA-E ternyata betul-betul mampu menghambat aktifitas sel NK oleh sel leukosit granula besar uterus melawan sel trofoblas pada permukaan fetomaternal. Maka tidak adanya ekspresi HLA regular dan kehadiran dari HLA-E pada sitotrofoblas invasif ternyata menjadi dasar yang signifikan terhadap perlindungan trofoblas terhadap pengenalan imunologi maternal atau serangan sitotoksik. Selama masa gestasi sel ekstrasitotrofoblas mempertahankan kemampuannya untuk meregulasi ekspresi HLA-E. HLA-E menghindari serangan imunologi maternal terus-menerus. Sel sitotrofoblas hanya menunjukkan sifat invasif secara transien dengan ekspresi metalloproteinase yang meningkat dan perubahan integrin. Pertumbuhan trofoblas dan invasi bergantung pada sitokin yang diproduksi oleh sel ini sebagai respon terhadap HLA-E yang diekspresikan pada sel sitotrofoblas (Mallia *et al*, 2012).

Sel T helper sebagai tipe inhibitor mutual pada plasenta dengan tipe sel yang pertama, dinamai sel Th1, mensekresi IL-2, IFN- γ dan limfotoksin. Hal ini kontras dengan tipe sel Th2, yang mensekresi IL-4, IL-4, IL-6 dan IL-10. Sitokin Th1 dihubungkan dengan imunitas sel mediated dan reaksi hipersensitifitas lambat, sedang sitokin Th2 menangkap respon antibody dan reaksi alergi. Oleh karena sitokin Th1 diperhitungkan cukup berbahaya terhadap kehamilan dan sitokin Th2 (IL-10) dan men-down regulasi produksi sitokin Th1, maka itu telah diungkapkan bahwa kehamilan yang sukses merupakan fenomena Th2. Beberapa substansi seperti prostaglandin E2, TGF β , GM-CSF, dan IL-10 berperan dalam rangkaian imunoendokrin pada pemeliharaan kehamilan. PGE-2 mempunyai banyak perangkat immunosupresif, termasuk inhibisi semua sel sistem imun. IL-10 secara potensial memiliki 2 mekanisme yang mana dapat menghambat fungsi imun, secara langsung sebagai faktor inhibitor sintesis sitokin dan secara tak langsung sebagai pemacu trofoblas invasi ke dalam arteri spiralis (Fukui *et al.*, 2012).

HLA-E memiliki peran sangat penting dalam perkembangan kehamilan. Locus HLA-E merupakan locus dengan densitas gen tinggi sehingga mengakibatkan pembentukan antigen. Antigen berperan penting dalam proses kehamilan yaitu dari pembentukan gamet hingga tahap perkembangan yang lengkap. Antigen kelas I diekspresikan pada trofoblas yang dapat membantu janin untuk menghindari serangan sistem imun ibu dan berperan pada tempat terjadinya hubungan fetoplasenta dengan cara melalui reseptor CD94/NKG2A melalui sel NK yang menyebabkan proses kehamilan berlangsung normal (Mallia *et al.*,

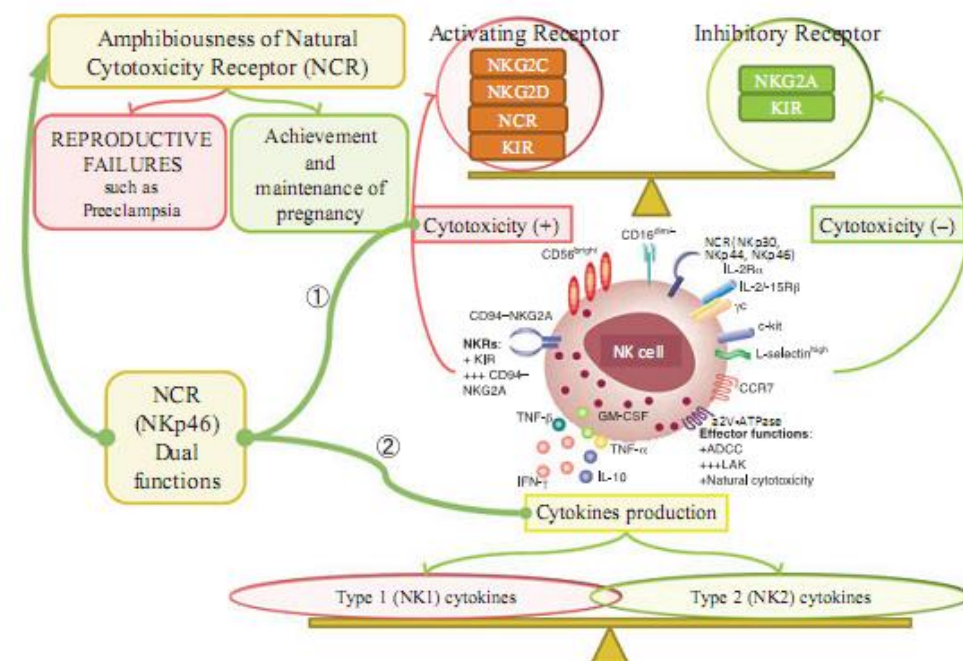
2012).

Adanya proses pertukaran reseptor permukaan HLA-E antara ibu dan ayah akan menyebabkan disfungsi implantasi, apabila janin terpajan berulang kali pada sel NK dalam uterus akan menghancurkan trofoblas. Sekali saja sel NK teraktivasi melalui reseptor CD94/NKG2C yang berikatan dengan HLA-E, maka sel tersebut akan memproduksi sitokin Th1 yang menyerang trofoblas dan merusaknya sehingga janin akan mengalami penolakan didalam uterus (Bhalla *et al*, 2006)

Preeklampsia berat merupakan penyakit pada kehamilan dan bentuk yang klasik didapatkan kebanyakan pada primipara. Penyakit tersebut diduga memiliki dasar imunologis namun belum jelas diketahui, hal ini timbul dari adanya insufisiensi pada sirkulasi uteroplasenta yang memicu kaskade sindroma maternal, yang diawali dengan adanya kerusakan pada plasentasi di awal kehamilan. Bukti penelitian genetik dan leukosit desidua terisolasi menyatakan bahwa sel NKdesidua ikut berperan penting dalam perkembangan dan modifikasi arteri di permukaan sirkulasi uteroplasenta. Peran penting terhadap plasentasi yang normal dapat menjadi dasar pemahaman penyebab patologi pada plasenta yang terjadi dalam preeklampsia berat (Yagel *et al*, 2008).

Sel NK mengekspresikan sitokin dan faktor angiogenik, yang mempunyai fungsi ganda yaitu menghambat sel NK melalui reseptor CD94/NKG2A dan mengaktifkan melalui reseptor CD94/NKG2C, ketidakseimbangan tersebut dapat menyebabkan kegagalan kehamilan seperti pada preeklampsia berat (Fukui *et al*, 2012)

Pada awal kehamilan terdapat peningkatan jumlah leukosit dalam sel desidua termasuk sel *Natural Killer* (NK) dan sitokin. Sel NK uterus yang diisolasi pada trimester pertama desidua mensekresikan banyak proangiogenik *Vascular Endothel Growth Factor* (VEGF), dan *Tissue Growth Factor β -1* (TGF β -1). Sel NK uterus merupakan sumber utama dari faktor angiogenesis pada permukaan maternal fetal selama awal kehamilan dan berperan penting untuk remodeling vaskuler (Bambang, 2013).



Gambar 4 : Patogenesis preeclampsia berat (Fukui, 2012)

5. Diagnosis

Preeklampsia, adalah penyakit spesifik pada kehamilan didefinisikan sebagai terjadinya hipertensi dan proteinuria pada wanita hamil setelah umur kehamilan 20 minggu, terjadi pada sekitar 2-8% dari kehamilan. Preeklampsia menurut American College of Obstetricians and Gynecologist (ACOG) adalah hipertensi (tekanan darah sistolik ≥ 140 mmHg dan diastolik ≥ 90 mmHg) disertai

proteinuria (≥ 30 mg/liter urin atau ≥ 300 mg/24 jam) yang didapatkan setelah umur kehamilan 20 minggu. Preeklampsia berat melibatkan kelainan sistem multiorgan, pasien yang terkena mungkin memiliki keluhan seperti sakit perut, disfungsi sistem saraf pusat (sakit kepala, ensefalopati, penglihatan kabur, atau kebutaan), edema paru, hipoksia atau sebagai manifestasi lain dari kebocoran kapiler. Tingkat kreatinin serum seringkali lebih besar dari 1,2 mg per desiliter, yang dalam banyak kasus akan mewakili penurunan lebih dari 50 persen dalam laju filtrasi glomerulus. Preeklampsia merupakan komplikasi dari kehamilan yang berhubungan dengan tingginya morbiditas dan mortalitas maternal serta pertumbuhan janin terhambat. Terdapat bukti bahwa pengurangan aliran darah uteroplasenta pada sindrom ini adalah hasil dari hipoksia, ketidakseimbangan faktor angiogenik dan antiangiogenik, inflamasi, serta faktor imun. (Elosa *et al*, 2012).

6. Penatalaksanaan

Pengelolaan preeklampsia berat sebelum 34 minggu masih kontroversial. Di beberapa lembaga, persalinan dicapai terlepas dari kematangan janin. Di sisi lain, persalinan ditunda untuk jangka waktu terbatas untuk memungkinkan pemberian kortikosteroid. Empat uji coba terkontrol acak luas yang membandingkan magnesium sulfat dengan pengobatan metode lain untuk mencegah kejang pada wanita dengan preeklampsia berat telah menunjukkan bahwa magnesium sulfat dikaitkan dengan jumlah yang signifikan lebih rendah dari eklampsia daripada tidak ada pengobatan atau nimodipin. Lucas dan rekan

melaporkan tidak ada kejang di antara 1.049 wanita preeklampsia yang menerima profilaksis magnesium sulfat (DecHerney *et al*, 2013).

Kehamilan yang dipersulit hipertensi gestasional dikelola menurut tingkat keparahan, umur kehamilan, dan adanya preeklampsia. Prinsip penatalaksanaan, sebagaimana ditekankan sebelumnya, juga memperhitungkan cedera sel endotel dan disfungsi multiorgan yang disebabkan oleh sindrom preeklampsia. Tujuan pengelolaan dasar untuk setiap kehamilan yang dipersulit oleh preeklampsia meliputi:

1. Terminasi kehamilan dengan meminimalisir kemungkinan trauma terhadap ibu dan janin
2. Kelahiran bayi yang kemudian tumbuh subur
3. Restorasi lengkap kesehatan untuk ibu

Pada banyak wanita dengan preeklampsia terutama yang mendekati atau pada aterm, ketiga tujuan didapat sama baiknya dengan induksi persalinan. Salah satu pertanyaan klinis yang paling penting untuk penatalaksanaan yang sukses adalah pengetahuan yang tepat dari usia janin (Cunningham *et al*, 2010).

Preeklampsia berat memerlukan rawat inap. Persalinan diindikasikan jika usia kehamilan 34 minggu atau lebih, kematangan paru janin dapat dipastikan, atau tampak perburukan status ibu atau janin. Pemeliharaan tekanan darah akut dapat dicapai dengan hidralazine, labetalol, atau nifedifin. Tujuan terapi antihipertensi adalah untuk mencapai tekanan darah sistolik < 160 mm hg dan tekanan darah diastolik < 105 mm hg. Kontrol tekanan darah yang terlalu agresif dapat mengganggu perfusi maternal ruang intravilus dan mempengaruhi oksigenasi

janin. Hidralazin adalah vasodilator perifer yang dapat diberikan dalam dosis 5 - 10 mg secara intravena (IV). Onsetnya adalah 10-20 menit, dan dapat diulang dalam 20 - 30 menit jika diperlukan. Labetalol dapat diberikan dalam dosis 5 - 20 mg IV dengan tekanan lambat. Dosis dapat diulang dalam 10 - 20 menit. Nifedipin adalah penghambat kanal kalsium yang dapat digunakan dalam dosis 5-10 mg oral. Pemberian melalui sublingual tidak boleh digunakan. Dosis dapat diulang dalam 20 - 30 menit, sesuai kebutuhan (DecHerney *et al*, 2013).

Namun, kejang tonik-klonik dapat tetap terjadi meskipun menerima terapi magnesium sulfat. Magnesium sulfat diberikan, status janin dipantau terus menerus, dan obat antihipertensi digunakan untuk menjaga tekanan darah sistolik <160 mmHg dan tekanan darah diastolik <105 mm Hg antara 33 dan 35 minggu, pertimbangan harus diberikan untuk amniosentesis untuk studi kematangan paru. Jika matur, persalinan segera diindikasikan. Jika imatur, diberikan kortikosteroid dan jika mungkin, persalinan ditunda 24-28 jam. Antara 24 dan 32 minggu, terapi antihipertensif diberikan sesuai indikasi, diberikan kortikosteroid, dan dilakukan konseling ibu ekstensif untuk memperjelas risiko dan manfaat perpanjangan kehamilan (DecHerney *et al*, 2013).

Meskipun berbagai pengobatan telah berhasil dikembangkan, morbiditas dan kematian ibu yang disebabkan oleh preeklampsia belum menunjukkan penurunan yang bermakna. Hal ini sebagian disebabkan oleh masih belum jelasnya etiologi dan patogenesis/mekanisme penyakit ini. Saat ini terdapat banyak teori etiologi yang mencoba menjelaskan patogenesis penyakit preeklampsia di antaranya predisposisi genetik, trombofilia, endokrinopati,

vaskulopati, iskemi plasenta, stres oksidatif dan maladaptasi imun (Sulistyowati, 2010).

B. Human Leucocyte Antigen-E (HLA -E)

1. Definisi

Human Leucocyte Antigen-E(HLA-E) adalah antigen yang diproduksi oleh gen HLA di kromosom 6 rantai pendek di lokasi p21 (6p21). HLA tergolong dalam molekul yang berperan dalam kompatibilitas organ dan disebut *Major Histocompatibility Complex* atau MHC. Dalam berbagai referensi, istilah HLA dan MHC digunakan secara *interchangeably*. Kompleks gen HLA terbagi menjadi tiga kelas yaitu kelas I, kelas II, dan kelas III. Gen yang menyandi molekul HLA adalah gen HLA kelas I dan kelas II.

Gen HLA kelas I : terbagi dalam lokus -A, -B, -C,-E, -F, dan -G atau disebut gen HLA-A, HLA-B,HLA-C, HLA-E, HLA-F, dan HLA-G. Gen HLA-A, -B,-C disebut juga *classical HLA class I genes*, dan gen HLA-E, -F, -G disebut juga *nonclassical HLA class I genes*.

Gen HLA kelas II, ditunjukkan dengan pemakaian huruf D atau HLA-D. Gen HLA kelas II terbagi dalam lokus -P, -Q, -R, -M, dan O atau disebut gen HLA-DP, HLA-DQ, HLA-DR, HLA-DM, dan HLA-DO. Gen HLA-DP, -DQ, -DR disebut sebagai *classical HLA class II genes*, dan HLA-DM,HLA-DO disebut sebagai *nonclassical HLA class II genes* (Shiina *et al*, 2009).

Gen yang menyandi molekul HLA adalah gen HLA kelas I dan II.Molekul HLA-E diproduksi oleh gen HLA-E di kompleks gen HLA kelas I. Molekul HLA-

E diekspresikan oleh sitotrofoblas yang melakukan invasi ke sisi maternal (*extravillous cytotrophoblast*), *cytokine activated monocytes*, sel kelenjar thymus, dan beberapa sel tumor. Molekul HLA-E didapatkan dalam cairan amnion dan pada bagian supernatan media kultur embrio. Ekspresi HLA-E pada *extravillous trophoblast* dan bukan pada *villous trophoblast* atau *cytotrophoblast* menimbulkan pemikiran bahwa HLA-E mempunyai peranan tertentu dalam kehamilan atau toleransi maternal selama kehamilan (Lin *et al*, 2007).

2. Fungsi :

Komponen penting lainnya dari bagian sistem imun fetomaternal yaitu HLA-E. HLA-E berfungsi membantu janin untuk menghindari serangan sistem imun maternal, dengan menghambat sel NK melalui reseptor CD94/NKG2A. Proses inhibisi sel NK melalui reseptor CD94/NKG2A yang dapat diberikan HLA-E tersebut dapat bermanfaat dalam menciptakan dan melindungi janin terhadap sistem imun ibu pada kehamilan normal (Sargent, 2007).

C. Nature Killer Cell (NK Cell)

1. Definisi

Adalah terdiri dari beberapa macam limfosit sitotoksik yaitu sel CD 8 dan sel T. Sel tersebut merupakan limfosit yang mempunyai partikel yang berisi sitoplasma yang besar (*Large Granular Lymphocyte/ LGLs*). Berfungsi sebagai sel pembunuh dan juga dapat menghasilkan sitokin dan Interferon α (IFN- α), Interferon β , (IFN- β), dan Interferon- γ (IFN- γ), Interleukin (IL-2, IL-10, IL-12 dan IL-15). Sel NK mengekspresikan dua jenis reseptor yaitu reseptor sel NK

komplek (*Nature Killer Cell Complex/ NKC*) yang berasal dari lektin yang menghubungkan gen pada kromosom 12 dan reseptor leukosit kompleks (*ReceptorLeukocytes Complex/RLC*) yang berasal dari immunoglobulin yang menghubungkan gen pada kromosom 19. Beberapa ligands reseptor ini adalah molekul HLA kelas I dan interaksi tersebut dapat mengaktifkan CD 94 / NKG2C atau menghambat CD 94 / NKG2A(Fukui *et al*, 2012).

NK Cell			
NK cell inhibitory reptors		NK cell activating receptors	
Receptors	Ligands	Receptors	Ligands
MHC class / specific		MHC class/ specific	
KIR		KIR	
KIR2DL1 (CD158a)	HLA-C	KIR2D51,KIR2D52	HLA-C
KIR2DL2/3	HLA-C	KIR2DL4	HLA-G
KIR2DL5	Unknown	KIR2D54, KIR2D55, KIR2D51	Unknown
KIR3DL1	HLA-Bw4 HLA-A3,- A11	C-type lectin receptors	
KIR3DL2		CD94/NKG2C	HLA-E
KIR3DL7	Unknown	CD94/NKG2E/H	Unknown
C-type lectin receptors		Non MHC class / specific	
CD94/NKG2A	HLA-E	Natural cytotoxicity receptors	
CD161	Unknown	NKp46	Unknown
Immunoglobulin like transcripts		NKp44	Unknown
LT-2	Unknown	NKp30	Unknown
Others		C-type lectin receptors	
P75/AIRM	Unknown	NKG20	MICA,MICB,ULBP- 1,2,3
IRp60	Unknown	Others	
LAIR-1	Ep-CAM	CD16,CD2,LFA1,2B4,NKp80,CD69,CD40 ligand	

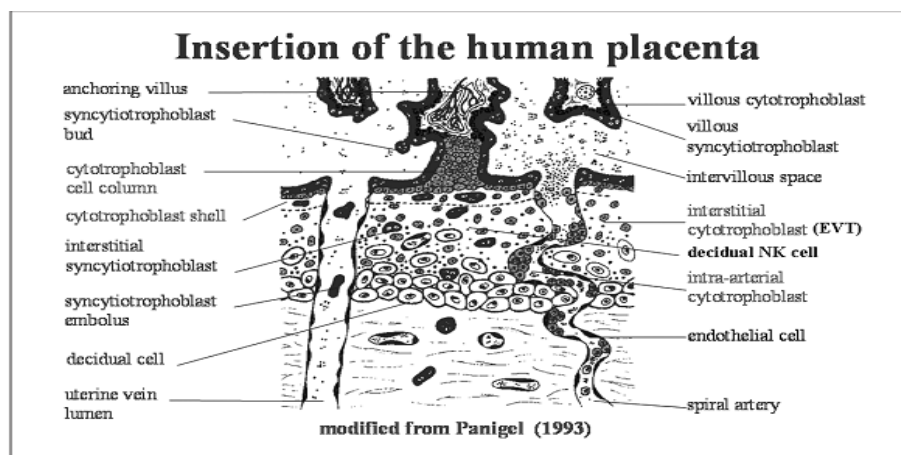
Reseptor sel NK (Fukui 2012)

2. Fungsi

Sel NK memiliki peran penting dan bertanggung jawab dalam proses kehamilan terdiri dari Limfosit 5 – 10 % berada dalam darah dan 70 – 90 %

berada di uterus. Pengaturan dari sel NK pada uterus dan sirkulasi diduga berhubungan dengan proses terjadinya abortus berulang, IUGR (*Intra Uterine Growth Restriction*), dan preeklampsi berat (Khan *et al*, 2006)

Terdapat berbagai reseptor yang dapat berfungsi menghambat dan mengaktifkan sel NK yang masing masing dapat berikatan dengan HLA-E. Sel NK yang berfungsi menghambat yaitu melalui reseptor CD94/NKG2A, yang bertanggungjawab agar proses kehamilan berjalan dengan normal, reseptor lain yang berfungsi mengaktifkan sel NK melalui CD94/ NKG2C yang dapat menyebabkan kegagalan remodeling arteri spiral yang dapat menyebabkan preeklampsia berat (Bachmayer *et al*, 2009).



Gambar 5 : Hubungan antara sel NK dengan Cytotrophoblas, dNk mengatur implantasi dan remodeling arteri uterine, hingga hubungan reseptor dengan Ligan. (Bachmayer *et al*, 2009).

D. Human Leucocyte Antigen-E pada Kehamilan Normal

Proses kehamilan pada manusia dianggap sebagai suatu proses semi-transplantasi (*semi-allograft*), karena separuh genjanin berasal dari ayah. Namun,

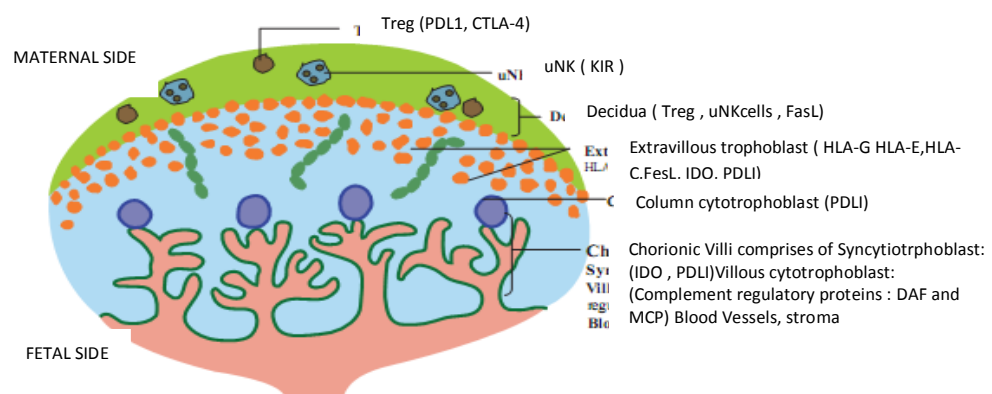
dalam kehamilan yang normal beberapa mekanisme toleransi telah mengurangi respon imun maternal terhadap janin. Diantaranya, yaitu ekspresi dari HLA-E oleh sitotrofoblas invasif telah terbukti memiliki peran penting dalam menciptakan sebuah lingkungan yang baik pada tempat terjadinya hubungan fetomaternal (Sargent *et al*, 2006).

GenHLA-E merupakan versi dari gen *major histocompatibility complex* (MHC) yang diekspresikan pada manusia, yang bertanggungjawab terhadap pengenalan limfosit, antigen dan pengaturan sistem imun. HLA-E berikatan dengan sel NK melalui reseptor CD94/NKG2A ikut serta mempengaruhi perkembangan gamet, pembelahan embrio, blastosit, pembentukan trofoblas, implantasi, perkembangan janin dan mempertahankan kehamilan(Mallia *et al*, 2012).

Janin yang merupakan semi-alogenik bagi sistem imun maternal ini berisiko tinggi untuk dianggap asing dan disingkirkan, namun tidak demikian kenyataannya dalam kehamilan normal. Sitotrofoblas yang melakukan invasi ke sisi maternal, pada saat mendekati desidua mengekspresikan HLA-E.Molekul HLA-E mempunyai kemampuan untuk menghambat respon sitolitik dari limfosit T sitotoksik dan menghambat aktivitas sel NK yang terdapat diendometrium. Proses inhibisi ini ditempuh melalui interaksi langsung molekul HLA-E dengan menghambat reseptor CD94 /NKG2A dari sel NK(Tripathi *et al*, 2007).

Untuk meningkatkan pengetahuan tentang HLA-E, Riteau dkk meneliti peranannya terhadap aktifitas sel NK dan limfosit T sitotoksik. Dari eksperimen yang dilakukan secara *in vitro*, dikemukakan bahwa ekspresi HLA-E

berkontribusi padaperlindungan terhadap janin dari sel NK melalui reseptor CD94/NKG2A. Perubahan ekspresi HLA-E bisa disebabkan oleh mutasi gen HLA-E itu sendiri atau berbagai faktor antara lain defisiensi TAP (*transporter associated with antigen processing*). Molekul HLA-E menginduksi sel fagosit mononuklear untuk memproduksi sitokin immunosupresif, dan toleransi dari sel dendritik. Struktur molekul HLA-E yang hampir monomorfik juga merupakan perlindungan bagi janin dari sistem imun maternal, dalam arti, meskipun HLA-E paternal diekspresikan oleh sel trofoblast namun sistem imun maternal tidak mengenali HLA-E paternal sebagai benda asing karena monoforfisme dari molekul HLA-E ini. Ishitani melaporkan bahwa semua sel yang mengekspresikan HLA-G juga mengekspresikan HLA-E (Guleria *et al*, 2007)



Gambar 6 :Ekspresi sel dan molekul pada tempat terjadinya hubungan Fetomaternal (Guleria *et al*, 2007)

E. Ekspresi *Human Leucocyte Antigen-E* (HLA-E) pada Preeklampsia Berat *early onset*.

Salah satu penemuan penting dalam sistem imun terhadap proses kehamilan adalah bahwa sel trofoblas memiliki pola yang unik, dan terdapat perbedaan pada janin. Sitotrofoblas ekstrasvili invasive pada *interface* satu tidak mengekspresikan HLA-A atau antigen B yang merangsang penolakan graft yang dimediasi sel T, namun juga mengekspresikan HLA-C, HLA-E, HLA-F, HLA-G. Sebaliknya sinsitiotrofoblas pada *interface* dua tidak mengekspresikan antigen kelas I dan kelas II (Hviid, 2006).

Trofoblas adalah satu-satunya sel konseptus yang berkontak langsung dengan jaringan atau darah ibu, dan jaringan ini secara genetis identik dengan jaringan janin. Penjelasan lain didasarkan pada berkurangnya responsivitas imunologis ibu hamil. Namun demikian, tidak terdapat bukti tentang hal ini kecuali hanya sebagai faktor pendukung. Penjelasan ketiga, uterus (desidua) diperkirakan sebagai suatu jaringan yang memiliki keistimewaan imunologis. Hal ini membuktikan bahwa imunitas transplantasi dapat terpicu dan diekspresikan dalam uterus seperti halnya pada jaringan lain. Dengan demikian, penerimaan dan kelangsungan hidup konseptus haruslah dikaitkan dengan sifat imunologis trofoblas yang unik, dan bukan desidua (Sulistyowati, 2010).

Hasil penelitian terkini bahwa jaringan ibu dapat menerima dan mentoleransi konseptus adalah suatu hal yang masih menimbulkan teka-teki. Selain itu, plasenta kemungkinan besar mengekspresikan gen baru. Beberapa

aspek baru dalam ekspresi sistem HLA di trofoblas, bersama dengan kumpulan limfosit yang khas, mungkin dapat memberi penjelasan mengenai hal ini.

Sir Peter Medawar pada tahun 1953 menyatakan bahwa solusi terhadap teka-teki alograf janin mungkin dapat dijelaskan oleh adanya suatu netralitas imunologis. Kemudian banyak peneliti memfokuskan diri pada penentuan ekspresi antigen kompleks histokompatibilitas mayor (*major histocompatibility complex*, MHC) di trofoblas. Antigen leukosit manusia (*human leukocyte antigen*, HLA), berdasarkan kesepakatan internasional, merupakan analog kompleks histokompatibilitas mayor pada manusia (Hviid, 2006).

Antigen MHC kelas II tidak ditemukan di trofoblas pada semua tahap gestasi. Ekspresi MHC kelas I di trofoblas oleh King dan Loke (1991) mengemukakan dalil bahwa implantasi normal bergantung pada invasi terkontrol trofoblas terhadap endometrium/desidua dan arteri spiralis ibu, yakni suatu mekanisme yang mungkin terjadi, tetapi kemudian membatasi invasi trofoblas. Mereka menyarankan bahwa sistem semacam itu melibatkan limfosit granular besar (*large lymphocyte*, LGL) uterus dan ekspresi unik gen HLA kelas I monomerik spesifik (atau ketiadaannya) di trofoblas.

Gen HLA adalah produk dari berbagai lokus genetik MHC yang terletak di lengan pendek kromosom 6. Terdapat 17 gen HLA kelas I, yang terdiri dari tiga gen klasik. Tiga gen tersebut adalah HLA-A, -B, -C mengkode antigen transplantasi mayor kelas I (Ia). Tiga gen kelas I (Ib) lainnya, yang disebut HLA-E, -F, dan -G juga mengkode antigen HLA kelas I. Sekuens DNA sisanya tampaknya merupakan pseudogen atau fragmen gen parsial.

Keberadaan antigen kelas I di sitotrofoblas dapat dijelaskan oleh ekspresi sebuah gen tunggal untuk HLA-E. Karena HLA-E bersifat nomerik (atau hampir menyerupai demikian), antigen ini dianggap sebagai bagian dari diri (*self*) sehingga tidak memicu respons imunologis ibu terhadap trofoblas janin yang mengekspresikan HLA-E. Ekspresi gen ini mungkin dirangsang oleh hipoksia. Untuk menjelaskan ekspresi HLA-E, perlu dipahami sifat populasi limfosit pada desidua manusia.

Limfosit granular besar uterus adalah sel khusus yang diperkirakan sel limfoid, berasal dari sumsum tulang dan merupakan turunan sel *natural killer* (NK). Sel ini terdapat dalam jumlah besar hanya pada fase midluteal siklus pada waktu diharapkan terjadinya implantasi. LGL ini memiliki fenotipe CD94 atau *neural cell adhesion molecule* di permukaannya (Sulistyowati, 2010).

Apabila terjadi implantasi blastokista, sel ini akan menetap di desidua selama minggu-minggu pertama kehamilan. Diperkirakan bahwa LGL terlibat dalam pengendalian invasi trofoblas. Peningkatan aktifitas sel NK melalui reseptor CD94/NKG2C menyebabkan kegagalan invasi trofoblas seperti yang terjadi pada preeklamsia (Isthiani, 2006). Sel ini mensekresi sejumlah besar *Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor* (GM-CSF) yang mengisyaratkan bahwa LGL pada desidua trimester I berada dalam keadaan aktif. Hal ini mendorong Jokhi (1994) berasumsi bahwa GM-CSF mungkin berfungsi terutama bukan untuk mendorong replikasi trofoblas tetapi lebih untuk mencegah apoptosis trofoblas. Menurut teori ini, LGL dan bukan limfosit T yang

terutama bertanggung jawab atas ketahanan imunologik pada desidua (Fukui *et al*, 2012).

HLA-E merupakan antigen spesifik jaringan dengan histokompatibilitas mayor yang diekspresikan pada sel trofoblas ekstravili. HLA-E dapat melindungi trofoblas dari intoleransi imun maternal-fetal dan memungkinkan sel ini menginvasi uterus. Rendahnya bahkan tidak adanya ekspresi HLA-E mencegah trofoblas menginvasi jaringan maternal dan sistim vaskular dengan benar. Kegagalan invasi ini dapat mengakibatkan defek plasenta yang berakibat adanya penurunan aliran darah utero plasenta yang ditemukan pada preeklampsia berat (Ishitani *et al*, 2006).

Selama kehamilan, sistem imun ibu selalu mengadakan kontak langsung dengan sel dan jaringan janin yang bersifat semi alogenik. Oleh karena itu, harus terdapat berbagai mekanisme untuk memodulasi dan mengurangi respon sistem imun maternal terhadap stimulus di atas. HLA-E menghambat lisis sel yang diinduksi oleh sel T dan sel NK melalui interaksi langsung dengan reseptor CD94/NKG2A sehingga sel trofoblas yang invasif akan mengekspresikan HLA-Ib pada permukaan selnya dan akhirnya tidak mengalami lisis yang dipicu oleh sel NK. Kuatnya ekspresi HLA-E pada sel trofoblas sangat invasif jika digabungkan dengan ekspresi HLA-E dan HLA-F dalam plasenta akan menghambat terjadinya komplikasi tersebut.

Dua penelitian yang dilakukan secara independen menunjukkan peningkatan resiko yang signifikan untuk terjadinya preeklampsia pada wanita yang hamil pertama kali. Jika janin mengekspresikan HLA-E, genotip ini dapat

menghilangkan ekspresi HLA-E pada plasenta. Namun demikian, belum cukup reproduksibel, masih banyak bukti yang harus dicari untuk menjelaskan kemungkinan adanya peran HLA-E dalam patogenesis preeklampsia (Fukui *et al*, 2012).

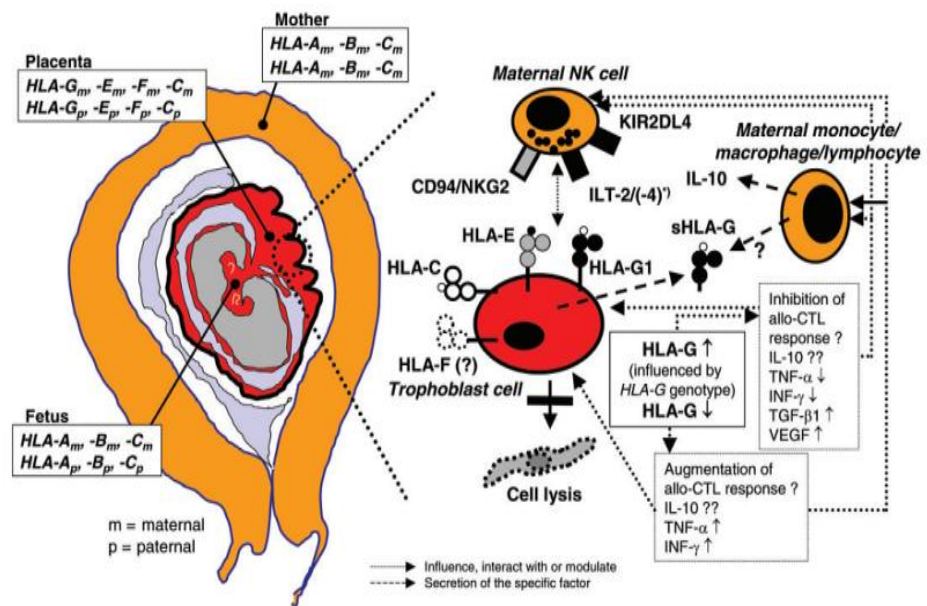
F. Ekspresi *Nature Killer Cell* pada Preeklampsia Berat *early onset*

Pada kehamilan normal janin yang merupakan jaringan *semiallograf* (membawa antigen ayah) tidak ditolak oleh ibu. Hal ini disebabkan adanya mekanisme toleransi respon imun ibu baik lokal (antara trofoblas dengan sel imun ibu di desidua pada awal kehamilan) maupun respon imun sistemik (antara sel imun ibu dalam sirkulasi/sistemik dengan sintitiotrofoblas) (Murphy *et al*, 2009).

Jika HLA-E tidak diekspresikan atau menurun, kemampuan trofoblas akan berkurang dan dihalangi untuk menginvasi uterus (dianggap sebagai *non self*). Pada saat yang sama sel NK maternal akan menghancurkan trofoblas yang kekurangan HLA-E ini. Tanpa invasi trofoblas yang tepat maka arteri maternal tidak akan dibentuk ulang sehingga aliran uteroplasenter menurun dan terjadi hipoksia/iskhemi plasenta yang menyebabkan preeklampsia berat. Keadaan tersebut memberikan dukungan terhadap hipotesis bahwa preeklampsia disebabkan oleh abnormalitas pengenalan imun lokal antara ibu dan janin pada uteroplasenta. HLA-E memegang peran dalam toleransi imun semialogenik janin oleh ibu. HLA-E yang cukup pada trofoblas menyebabkan tidak terjadinya atau tidak memicu respon imunologis ibu. Pada desidua terdapat *Large Granular Lymphocytes* (LGLs) salah satunya yaitu *Natural Killer Cell* (NK cell) melalui

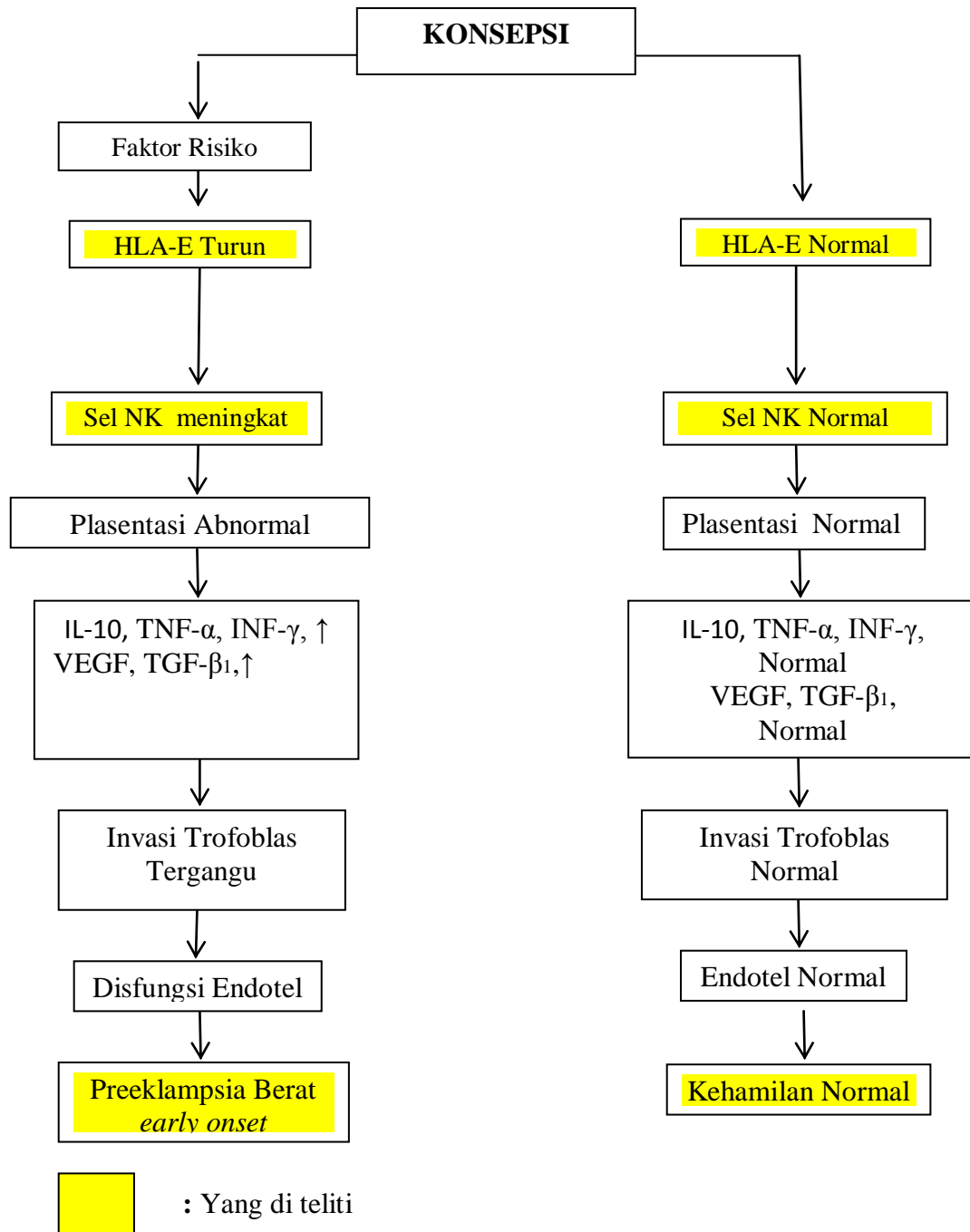
reseptor CD94/NKG2C yang berfungsi menghancurkan sel target yang tidak cukup mengekspresikan HLA-E (Borrego *et al*, 2006).

Eksresi HLA-E yang berkurang tersebut menjadikan tropoblas ekstravili lebih mudah dirusak sel N dan mengakibatkan terhambatnya invasi tropoblas fetomaternal, hal ini disebabkan oleh proses aktivasi yang dapat menghambat remodeling mengakibatkan terjadinya penyempitan dan invasi yang dangkal dan rapuh dari arteri spiralis. Ekspresi molekul antigen HLA-E pada wanita hamil dan hubungan antara molekul HLA kelas Ib, reseptor sel NK dan sitokin pada permukaan Fetoplasenta. Janin merupakan semiallogenik (pembawa gen dari arah) demikian juga dari ibu. Ekspresi polimorfik antigen HLA kelas Ia dan II, HLA-A, - B, dan -DR tidak dihasilkan oleh tropoblast. HLA-E merupakan monomorfik dari antigen HLA kelas Ib yang diekspresikan ditropoblas. Sel NK akan merusak tropoblas melalui reseptor CD94/NKG2, dengan demikian HLA-E menurun sehingga akan meningkatkan respon sitokin (IL-10) dan allo - sitotoksik Limfosit T (*CTL/Allo - Cytotoxic T - Lymphocyte*) (Hviid, 2006).



Gambar 7. Hubungan HLA-E dengan sel NK pada kehamilan normal dan preeklampsia berat (Hviid, 2006)

G. Kerangka Konsep



H. Penjelasan Kerangka Konsep

Selama kehamilan, sistem imun ibu selalu mengadakan kontak langsung dengan sel dan jaringan janin yang bersifat semi alogenik. Oleh karena itu, harus terdapat berbagai mekanisme untuk memodulasi dan mengurangi respon sistem imun maternal terhadap stimulus di atas. Gen HLA-E merupakan versi dari gen *major histocompatibility complex* (MHC) yang diekspresikan pada manusia, yang bertanggungjawab terhadap pengenalan limfosit, antigen dan pengaturan sistem imun. HLA-E berikatan dengan sel NK melalui reseptor CD94/NKG2A ikut serta mempengaruhi perkembangan gamet, pembelahan embrio, blastosit, pembentukan trofoblas, implantasi, perkembangan janin dan mempertahankan kehamilan.

Pada awal kehamilan terdapat peningkatan jumlah leukosit dalam sel desidua termasuk sel *Natural Killer* (NK) dan sitokin. Sel NK uterus yang diisolasi pada trimester pertama desidua mensekresikan banyak proangiogenik *Vascular Endothel Growth Factor* (VEGF), dan *Tissue Growth Factor β -1* (TGF β -1). Sel NK uterus merupakan sumber utama dari faktor angiogenesis pada permukaan maternal fetal selama awal kehamilan dan berperan penting untuk remodeling vaskuler.

Ekspresi HLA-E yang berkurang tersebut menjadikan tropoblas ekstravili lebih mudah dirusak sel NK dan mengakibatkan terhambatnya invasi tropoblas fetomaternal, hal ini disebabkan oleh proses aktivasi yang dapat menghambat remodeling mengakibatkan terjadinya penyempitan dan invasi yang dangkal dan rapuh dari arteri spiralis hal ini merupakan salah satu teori imun yang dapat menyebabkan preeklampsia berat.

Pada desidua terdapat *Large Granular Lymphocytes* (LGLs) salah satunya yaitu *Natural Killer Cell* (NKcell) melalui reseptor CD94/NKG2C yang berfungsi menghancurkan sel target yang tidak cukup mengekspresikan HLA-E.

Endotel pembuluh darah apabila menerima rangsangan dari sitokin proinflamasi Interleukin-10 (IL-10), Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) dan Interferon- γ (IFN- γ) sitokin inflamasi yang dapat menyebabkan perubahan struktural dan fungsional pada sel endotel akan mengeluarkan bahan adhesi molekul monosit akan menyebabkan disfungsi endotel yang mengakibatkan terjadinya preeklampsia, sebagaimana ditemukan di preeklampsia dan di kultur jaringan plasenta di bawah kondisi hipoksia-reoksigenasi, mungkin dimediasi oleh proinflamasi.

Pada preeklampsia berat *early onset* terjadi ketidakseimbangan faktor proangiogenik sehingga terjadi gangguan defek imunologi sejak awal implantasi yaitu gangguan pada proses angiogenesis dan remodeling plasenta. Pada proses angiogenesis berfungsi untuk memastikan jaringan yang bekerja baik untuk menyuplai oksigen dan nutrisi ke janin.

I. Hipotesis

1. Terdapat perbedaan ekspresi HLA-E di trofoblas pada preeklampsia berat *early onset* dibandingkan dengan kehamilan normal. Ekspresi HLA-E di trofoblas lebih rendah pada preeklampsia berat *early onset* bila dibandingkan dengan kehamilan normal.

2. Terdapat perbedaan ekspresi sel NK di trofoblas pada preeklampsia berat *early onset* lebih tinggi dibandingkan dengan kehamilan normal. Ekspresi sel NK di trofoblas lebih tinggi pada preeklampsia berat *early onset* bila dibandingkan dengan kehamilan normal.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis dan Rancangan Penelitian.

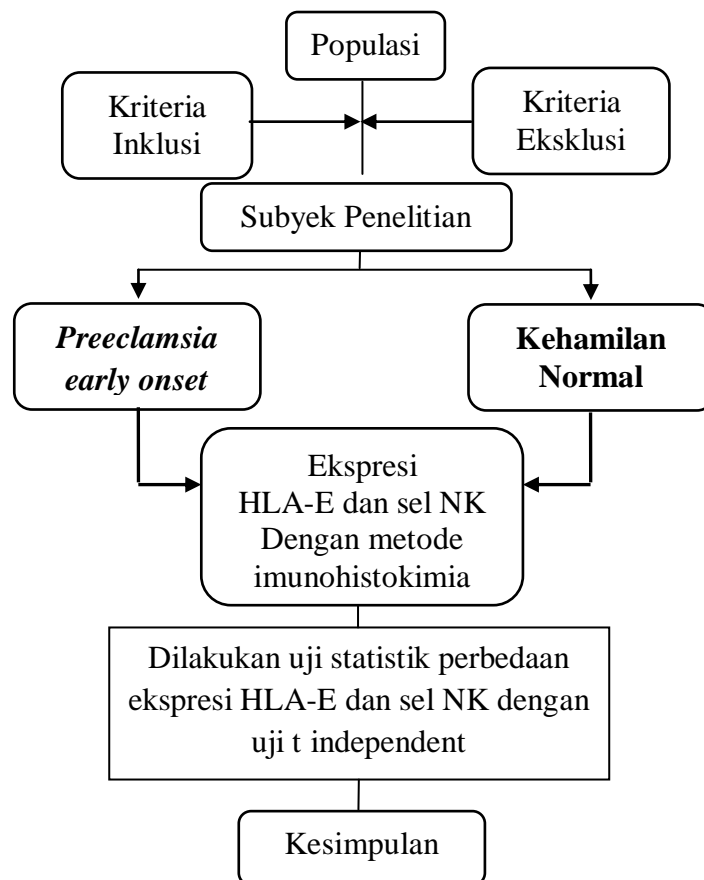
1. Jenis Penelitian

Penelitian ini secara observasional analitik.

2. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini adalah penelitian potong lintang (*cross sectional study*) dengan pendekatan uji klinis Ekspresi HLA-E dan sel NK pada penderita preeklampsia berat dan kehamilan normal.

Gambar 3.1 : Alur Penelitian



Maching: Tinggi badan, berat badan, umur, sistole, diastole, gula darah sewaktu, SGOT, SGPT, Ureum, Hb, dan protein urin.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Sampel diambil di Bagian Obstetri dan Ginekologi RSUD Dr. Moewardi Surakarta dan RS jejaring sejak bulan Februari s/d Mei 2016. Penelitian dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi FK UNS Surakarta pada bulan Maret 2016 s/d Mei 2016.

C. Subjek Penelitian.

Subjek pada penelitian ini adalah penderita preeklampsia berat *early onset* dan kehamilan normal, yang melahirkan di RS Dr Moewardi Surakarta dan RS jejaring selama bulan Februari s/d Mei 2016 yang telah memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

1. Kriteria Inklusi

Kriteria untuk preeklampsia berat *early onset* adalah:

1. Pasien Preeklampsia berat *early onset*
2. Pasien dengan kehamilan normal
3. Usia ibu 20-35 tahun.
4. Bersedia menandatangani lembar persetujuan

2. Kriteria Eksklusi

Kriteria eksklusi adalah:

1. Menderita hipertensi kronis, penyakit jantung, penyakit ginjal, diabetes mellitus, dan penyakit hati.
2. Tidak menderita Ketuban Pecah Dini, tidak ada infeksi.

Kelompok kasus adalah subjek dengan preeklampsia berat *early onset* sedangkan kelompok kontrol adalah subjek dengan kehamilan normal. Pengambilan sampel dilakukan dengan cara pengambilan jaringan plasenta, sebanyak 18 sampel jaringan penderita preeklampsia berat *early onset* dan 18 sampel jaringan plasenta kehamilan normal kemudian dilakukan pengecatan dengan teknik immunohistokimia *staining* dilakukan dengan menggunakan antibodi monoklonal anti human HLA-E dan sel NK(CD94) kemudian diamati ekspresinya secara mikroskopik pada 9 lapang pandang. Pada kelompok kehamilan normal, pengambilan sampel jaringan plasenta tidak dihomogenkan dengan umur minggu atau umur kehamilan terjadinya tetapi saat persalinan berlangsung.

D. Besar sampel

Rumus untuk menghitung besar sampel untuk rancangan *cross sectional* adalah

$$n = \frac{Z^2 \cdot 1-\alpha/2 \cdot p \cdot q}{d^2}$$

n = Besar masing-masing kelompok sampel.

p = Prevalensi paparan pada populasi

q = 1-p

$Z^2 \cdot 1-\alpha/2$ = statistik Z

d = delta, presisi absolut atau *margin of error* yang diinginkan di kedua sisi proporsi (misalnya +/- 5%)

$Z\alpha$ = nilai studi normal yang besarnya tergantung α

$$\text{Bila } \alpha = 0,05 \longrightarrow Z_{\alpha} = 1,96$$

$$\text{Bila } \alpha = 0,01 \longrightarrow Z_{\alpha} = 2,57$$

(Murti *et al*, 2010)

Dari Tinjauan Pustaka didapatkan bahwa prevalensi preeklampsia berat 3-7% dari 1000 penduduk. Maka besar sampel adalah:

$$N = \frac{(2,57)^2 \cdot 0,007 \cdot 0,993}{(0,05)^2}$$

$$= 18,36 \approx 18 \text{ sampel}$$

Dari rumus tersebut didapatkan besar sampel minimal 18 sampel preeklampsia berat dan 18 sampel kehamilan normal.

E. Variabel Penelitian.

1. Variabel bebas.

Ekspresi *Human Leucocyte Antigen-E* dan *Nature Killer cell* pada preeklampsia *early onset* dan kehamilan normal

2. Variabel terikat.

Preeklampsia berat *early onset* dan kehamilan normal.

F. Definisi Operasional.

1. Kehamilan normal adalah kehamilan dengan janin tunggal, intra uterin, presentasi kepala, berat badan lahir 2500-4000 g, tidak didapatkan kelainan atau komplikasi pada ibu dan bayinya

2. Preeklampsia berat *early onset* adalah kehamilan dengan hipertensi (tekanan darah sistolik ≥ 140 mmHg atau diastolik ≥ 90 mmHg) disertai dengan proteinuria pada kehamilan diatas 20 minggu s/d 34 minggu
3. Ekspresi HLA-E adalah antigen yang dihasilkan oleh gen HLA pada kromosom yang berperan mempertahankan toleransi maternal selama kehamilan. Pengamatan dilakukan sebanyak 9 lapangan pandang. Nilai prosentase yang ditampilkan adalah nilai rerata prosentase ekspresi HLA-E perlapang pandang tersebut.
4. Ekspresi Sel NK adalah limfosit yang mempunyai partikel yang berisi sitoplasma yang besar berperan sebagai sel pembunuh sehingga menyebabkan toleransi maternal terganggu. Pengamatan dilakukan sebanyak 9 lapangan pandang. Nilai prosentase yang ditampilkan adalah nilai rerata prosentase ekspresi sel NK perlapang pandang tersebut.

G. Prosedur penelitian yang dilakukan

1. Memilih kelompok penelitian dan kontrol Kelompok penelitian dan kontrol adalah ibu hamil yang memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yang memeriksakan diri di RSUD Dr. Moewardi Surakarta
2. Kelompok penelitian adalah kelompok yang di diagnosis dengan preeklamsia serta memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditetapkan.

3. Kelompok kontrol adalah kelompok yang di diagnosis dengan hamil normal, serta memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi yang telah ditetapkan.
4. Kedua kelompok kemudian dilakukan pemeriksaan kadar ekspresi HLA-E dan sel NK di laboratorium Patologi Anatomi FK UNS, ekspresi HLA-E ditunjukkan dengan warna merah kecoklatan pada trofoblast, diperiksa pada 9 lapang pandang, hasil yang ditunjukkan merupakan nilai rerata ekspresi HLA-E dan sel NK dari 9 lapang pandang
5. Hasilnya kemudian dilakukan uji statistik perbedaan ekspresi HLA-E dan sel NK dengan uji t independen.

H. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat:

- | | |
|--------------------------------------|------------------------------------|
| - <i>Cassette tissue</i> | - <i>Beaker glass</i> |
| - Mikrotom | - <i>Poly L-Lysine slides</i> |
| - <i>Deckglass</i> | - <i>Humidity chamber vertical</i> |
| - <i>Humidity chamber horisontal</i> | - Mikro pipet 10 µl |
| - Mikro pipet 100 µl | - Mikro pipet 1000 µl |
| - <i>PCR tube</i> | - <i>Shaker</i> |

2. Bahan

- | | |
|-----------------------------|--|
| - Formalin buffer | - Alkohol 95%, 80%, 70%, 50%. |
| - Xylol | - Parafin |
| - Aquadest | - Buffer sitrat pH 6 |
| - PBS pH 7,2 - 7,4 | - Metanol H ₂ O ₂ 0,3% |
| - Backgroud snifer | - Antibodi primer (HLA-E, CD 94) |
| - Antibodi sekunder: biotin | - Trekavidin |

- Substrat enzim peroksidase: DAB - Hematoxylin
- Canada balsam - Kapas atau tissue

I. Pembuatan slide jaringan

Jaringan trofoblas dari persalinan difiksasi terlebih dahulu dengan menggunakan larutan formalin buffer minimal selama 2 jam. Masukkan jaringan kedalam *cassette tissue* dan rendam dalam alkohol 50%, 70%, 80%, 95%, kemudian dilakukan pembersihan menggunakan xylol 3 kali masing-masing 60 menit. Kemudian dilakukan proses *embedding* yaitu direndam dalam paraffin cair dengan titik lebur 58°C pada suhu 45°C dalam inkubator selama 24 jam, kemudian dibuat blok paraffin. Keesokan harinya ditempelkan pada *holder* dan dilakukan pemotongan setebal 4-5 mikron dengan *rotary microtome*. Diletakkan pada *slides poly L-lysine* selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 malam. Gelas objek hasil parafin blok direndam dalam xylol 4 kali masing-masing selama 5 menit. Setelah itu dilakukan rehidrasi menggunakan alkohol bertingkat (absolut 95%, 70%) kemudian dibilas dengan dengan aquadest (H₂O) selama 5 menit.

J. Imunohistokimia HLA-E dan sel NK

Slide dicuci dengan PBS pH 7,4 dua kali selama 5 menit. Tetesi dengan *endogenous peroksidase methanol H₂O₂ 3%* selama 15 menit kemudian bilas dengan air mengalir selama 5 menit dan cuci kembali dengan aquadest selama 5 menit. Cuci kembali dengan menggunakan PBS selama 2x5 menit. Kemudian retrieval dengan buffer sitrat pH 6 pada microwave atau decloing chamber. Tunggu sampai dingin setelah itu dicuci dengan PBS selama 2x5 menit dan tetesi

dengan background snifer. Tiriskan, kemudian tetesi dengan monoklonal antibodi HLA-E dan sel NK yang telah disiapkan. Inkubasi pada suhu 4°C selama 18 jam. Cuci dengan PBS kembali selama 2x5 menit. Tetsi dengan antibodi sekunder (trekkie universal libk) selama 10 menit. Tetsi dengan trekavidin selama 10 menit, cuci dengan PBS selama 2x5 menit kemudian pemberian substrat enzim peroksidasedietyl amino benzyn selama 15 menit. Cuci dengan air selama 15 menit dan tetesi dengan hematoxylin selama 40 detik dan cuci dengan air mengalir selama 10 menit. *Mounting* menggunakan entelan dan tutup dengan *cover glass*. Amati pada mikroskop cahaya. Ekspresi HLA-E dan sel NK ditunjukkan dengan warna kuning keemasan sampai coklat pada kulit ketuban. Pengamatan dilakukan sebanyak 9 lapangan pandang. Nilai prosentase yang ditampilkan adalah nilai rerata prosentase ekspresi HLA-E dan sel NK perlapang pandang tersebut. Penilaian makna tampilan HLA-E dan sel NK dinyatakan sebagai Skor Histologi (SH) dilakukan berdasar rumus sebagai berikut : $SH = (PK \times IK) + (PS \times IS) + (PL \times IL) + (PN \times IN)$ (Sumber: Tan *et al*, 2002)

Keterangan:

P = Prosentase

K = Kuat

N = Negatif

I = Intensitas

L = Lemah

S = Sedang

Nilai P (prosentase jumlah sel):

0 – 25% : nilai 1

26 – 50% : nilai 2

Nilai I (Intensitas):

0 : negatif

1 : positif lemah

51 – 75%	: nilai 3	2	: positif sedang
76 – 100%	: nilai 4	3	: positif kuat

Skor Histologis HLA-E dan sel NK

Interval Nilai	Makna Kualitatif
0,00 – 3,75	Negatif
3,76 – 7,50	Positif lemah
7,51 – 11,25	Positif sedang
11,26 – 15,00	Positif kuat

(Sumber: Tan *et al*, 2002)

K. Analisis Data

Data yang diperoleh (hasil akhir skor histologi) dikumpulkan dan dibandingkan kemaknaannya secara statistik menggunakan uji t independen dengan menggunakan SPSS versi 17.00 for Windows.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Deskripsi Data Penelitian

1. Karakteristik Subyek Penelitian

Subjek penelitian adalah 36 ibu hamil yang melahirkan di RSUD Dr. Moewardi Surakarta yang terbagi dalam 2 kelompok yaitu 18 orang ibu hamil dengan Preeklamsia Berat *early onset* (*PEB early onset*) dan 18 orang ibu hamil partus normal yang semuanya memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi.

Tabel 1. Sebaran dan Keragaman Data Subjek Penelitian

Variabel	N	Min	Max	Rerata	SD
Umur ibu (tahun)	36	20.00	37.00	28.36	5.18
Umur kehamilan (minggu)	36	37.00	40.00	38.30	1.14
Tekanan darahSistole (mmHg)	36	100.00	210.00	145.00	35.15
Tekanan darah diastole (mmHg)	36	60.00	140.00	94.44	23.56
Haemoglobin (gr/dl)	36	8.50	15.70	12.44	1.70
Ureum (mg/dl)	36	7.00	23.00	14.97	4.72
Kreatinin (mg/dl)	36	0.40	1.20	0.72	0.19
Serum glutamic oxaloacetic transaminase (U/I)	36	14.00	587.00	59.55	104.51
Serum glutamic pyruvate transaminase (U/I)	36	6.00	202.00	27.80	46.24
Gula darah sewaktu (mg/dl)	36	67.00	113.00	93.00	11.35
Trombosit (mg/dl)	36	100.00	450.00	264.88	93.14
HLA-E	36	1.41	26.93	10.43	8.41
Sel NK	36	11.76	82.98	44.83	18.63

Dari data diatas didapatkan bahwa rerata variable umur ibu hamil adalah 28.36 ± 5.18 tahun dengan umur kehamilan rerata berusia 38.30 ± 1.14 minggu. Rerata tekanan darah sistole 145.00 ± 35.15 mmHg dan tekanan darah diastole

94.44 \pm 23.56 mmHg. Kadar Haemoglobin rerata 12.44 \pm 1.70 gr/dl, ureum rerata 14,97 \pm 4.72 mg/dl, kreatinin rerata 0.72 \pm 0.19 mg/dl, SGOT rerata 59.55 \pm 104.51 U/I dan SGPT dengan rerata 27.80 \pm 46.24 U/I, Gula Darah Sewaktu rerata 93.00 \pm 11.35 mg/dl, dan trombosit rerata 264.88 \pm 93.14.

Tabel. 2. Sebaran dan keragaman subyek penelitian

Variabel	N	%
Pendidikan		
- Sekolah dasar	3	8.3
- Sekolah menengah pertama	22	61.1
- Sekolah menengah atas	11	30.6
Pekerjaan		
- Bekerja	7	19.4
- Ibu rumah tangga	29	80.6

Pasien dengan pendidikan dasar sebanyak 3 orang (8.3%) dan pendidikan SMP sebanyak 22 orang (61.16%) serta pendidikan SMA sebanyak 11 orang (30.6%). Sebanyak 7 kasus (19.4%) adalah wanita bekerja dan 29 kasus (80.6%) adalah ibu rumah tangga (IRT).

Analisis statistik menggunakan uji normalitas Kolmogorov-Smirnoff terhadap variabel penelitian umur ibu, umur kehamilan, tekanan darah sistole, tekanan darah diastole, kadar Hemoglobin, ureum, kreatini, SGOT, SGPT, GDS, trombosit pada kelompok kasus dan kelompok kontrol tidak didapatkan perbedaan yang bermakna (Kolmogorov-Smirnoff > 0.05). Lampiran 11. Dan untuk selanjutnya untuk mencari perbedaan rerata pada variable-variable tersebut menggunakan uji t test.

Tabel 3. Uji Beda Rerata (Uji Bivariate) Subyek Penelitian Menurut Kelompok PEB *early onset* dan Kelompok Normal

Variabel	Kelompok	N	Mean	SD	p
Umur ibu (tahun)	PEB	18	28.27	5.83	0.92
	Normal	18	28.44	4.61	
Umur kehamilan (minggu)	PEB	18	38.38	1.195	0.67
	Normal	18	38.22	1.11	
Tekanan darah Sistole (mmHg)	PEB	18	177.22	17.08	0.00*
	Normal	18	112.77	7.32	
Tekanan darah Diastole (mmHg)	PEB	18	115.00	14.24	0.00*
	Normal	18	73.88	6.76	
Haemoglobin (gr/dl)	PEB	18	11.96	1.71	0.09
	Normal	18	12.92	1.60	
Ureum (mg/dl)	PEB	18	15.72	5.01	0.34
	Normal	18	14.22	4.43	
Kreatinin (mg/dl)	PEB	18	0.74	0.20	0.61
	Normal	18	0.71	0.18	
SGOT (U/I)	PEB	18	100.33	137.68	0.02*
	Normal	18	18.77	3.20	
SGPT (U/I)	PEB	18	42.33	62.68	0.66
	Normal	18	13.27	5.11	
Gula Darah Sewaktu (mg/dl)	PEB	18	96.83	8.01	0.04*
	Normal	18	89.16	13.04	
Trombosit (mg/dl)	PEB	18	225.55	93.52	0.01*
	Normal	18	304.22	76.41	

Tabel 4. Uji Beda Rerata (Uji Bivariate) Subyek Penelitian Menurut Kelompok PEB *early onset* dan Kelompok Normal

Variabel	PEB		Normal		P
	N	%	N	%	
Pekerjaan					
Bekerja	4	22.23	23	16.7	0.73
IRT	14	77.8	15	83.3	
Pendidikan					
SD	2	11.1	1	5.6	0.67
SMP	10	55.6	12	66.6	
SMA	6	33.3	5	27.8	

Nilai signifikan : $p < 0.05$

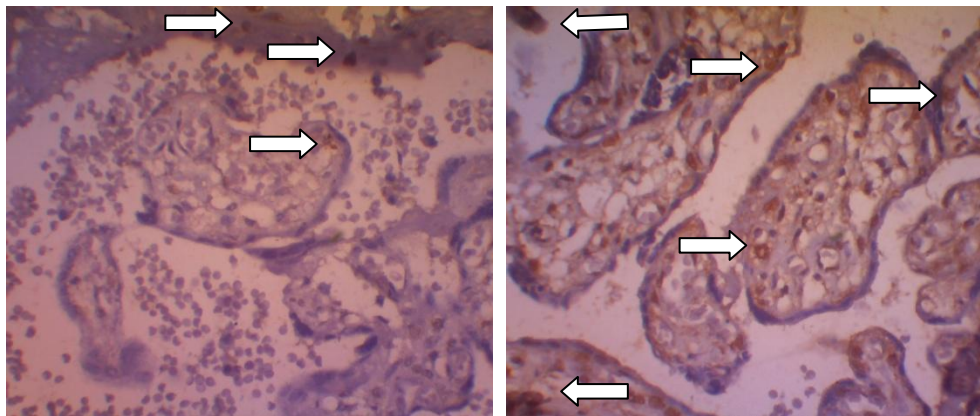
Dari hasil uji beda rerata kelompok PEB *early onset* dengan kelompok hamil normal didapatkan hasil :

- a. Tidak ada perbedaan yang bermakna untuk variable umur ibu, umur kehamilan, kadar Hemoglobin, Ureum, Kreatinin, dan SGPT (nilai $p > 0,05$).
- b. Ada perbedaan yang bermakna untuk variable tekanan darah sistole, tekanan darah diastole, SGOT, GDS dan trombosit antara kelompok PEB *early onset* dengan kelompok normal dimana nilai $p < 0,05$. Lampiran 7.
- c. Dengan menggunakan Pearson Chi-square (X^2) didapatkan bahwa tidak ada perbedaan yang bermakna untuk variabel pendidikan dan pekerjaan ($p > 0.05$) Lampiran 9.

2. Ekspresi HLA-E pada Jaringan Trofoblas Plasenta PEB dan Plasenta Normal

Penentuan ekspresi HLA-E pada jaringan trofoblas plasenta dilakukan dengan pengecatan dengan teknik immunohistokimia *staining* dengan menggunakan antibody monoklonal anti human HLA-E dan sel NK (CD94) kemudian diamati ekspresinya secara mikroskopik pada 9 lapang pandang. Tampak pada gambar 1 bahwa Ekspresi HLA-E pada trofoblas kehamilan dengan PEB *early onset* dengan perbesaran 400x, menggunakan mikroskop Olympus seri cx21. Ekspresi HLA-E ditunjukkan gambaran warna coklat kemerahan. Pada kehamilan dengan preeklamsia berat *early onset* ekspresinya kurang kuat ditunjukkan dengan warna kebiruan (A). Sedangkan Ekspresi HLA-E pada

trofoblas kehamilan normal dengan perbesaran 400x, menggunakan mikroskop Olympus seri cx21. Ekspresi HLA-E ditunjukkan gambaran warna coklat kemerahan dengan inti meluas ke sitoplasma. Pada kehamilan normal ekspresinya sangat kuat ditunjukkan dengan warna coklat kemerahan (B)



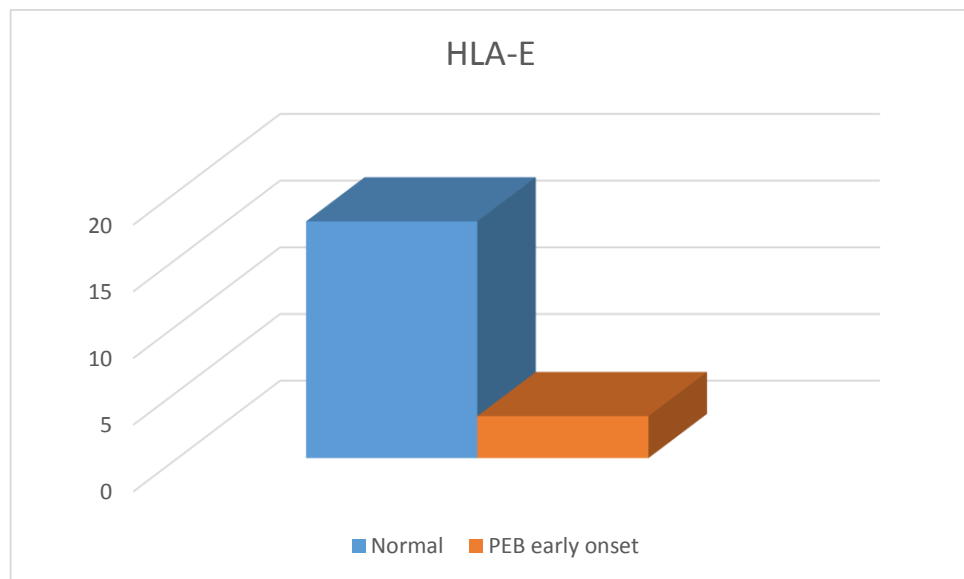
A. Ekspresi HLA-E pada trofoblas kehamilan PEB *early onset*

B. Ekspresi HLA-E pada trofoblas kehamilan normal

Gambar 1. Ekspresi HLA-E pada kehamilan normal dan kehamilan PEB *early onset*.

Dengan menggunakan metode penghitungan sebaran HLA-E (berwarna kebiruan) sel trofoblas pada jaringan trofoblas, maka didapatkan hasil rerata sebaran sel trofoblas per μm^2 jaringan trofoblas seperti tertera pada tabel 5. Distribusi HLA-E tampak lebih sedikit pada plasenta PEB *early onset* ($3.14 / \mu\text{m}^2$), dibandingkan dengan normal ($17.74 / \mu\text{m}^2$).

Hasil interpretasi grafik tampak jelas bahwa HLA-E pada kelompok PEB *early onset* mempunyai puncak lebih rendah dibandingkan dengan kelompok normal. (Gambar 9)



Gambar 2. Distribusi Rerata HLA-E Pada Kelompok Normal Dan Kelompok PEB *early onset*

Analisis variable HLA-E dengan menggunakan uji distribusi normal (Kolmogorov-Smirnoff) pada kelompok PEB *early onset* dan kelompok normal terdistribusi secara normal dimana nilai $p=0.74$ ($p>0.05$) untuk PEB *early onset* dan $p=0.46$ ($p>0.05$) untuk kelompok normal. Lampiran 1

Tabel 5. Uji Beda Rerata (Uji Bivariate) HLA-E pada Jaringan Trofoblas Kelompok PEB *early onset* dan Kelompok Normal

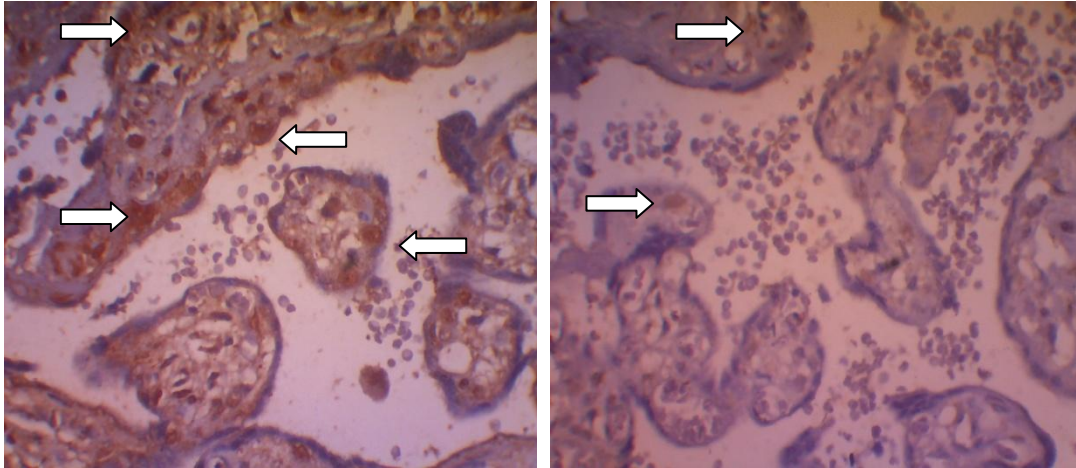
Variabel	Kelompok	N	Mean	SD	Nilai p
HLA-E	PEB <i>early onset</i>	18	3.14	0.87	0.00
	Normal	18	17.74	5.68	

Nilai signifikan : $p<0.05$

Analisis uji t dengan menggunakan tingkat kepercayaan 95%, $\alpha=0,05$, membuktikan bahwa HLA-E antara kelompok normal dan kelompok PEB *early onset* terdapat perbedaan yang signifikan dimana terdapat nilai $p=0.00 (<0.05)$. Lampiran 8.

3. Ekspresi sel NK-Cell Pada Jaringan Trofoblas Plasenta PEB *early onset* dan Plasenta Normal

Penentuan ekspresi sel NK pada jaringan trofoblas plasenta dilakukan dengan pengecatan dengan teknik immunohistokimia *staining* dengan menggunakan antibodi monoklonal anti human HLA-E dan sel NK (CD94) kemudian diamati ekspresinya secara mikroskopik pada 9 lapang pandang. Tampak pada gambar 10 bahwa Ekspresi sel NK pada trofoblas kehamilan dengan preeklamsia berat *early onset* dengan perbesaran 400x, menggunakan mikroskop Olympus seri cx21. Ekspresi sel NK ditunjukkan gambaran warna coklat kemerahan dengan inti meluas ke sitoplasma. Pada kehamilan dengan preeklamsia berat *early onset* ekspresinya sangat kuat ditunjukkan dengan warna coklat kemerahan (A). Sedangkan Ekspresi sel NK pada trofoblas kehamilan normal dengan perbesaran 400x, menggunakan mikroskop Olympus seri cx21. Ekspresi sel NK ditunjukkan gambaran warna coklat kemerahan. Pada kehamilan normal ekspresinya kurang kuat ditunjukkan dengan warna kebiruan (B).



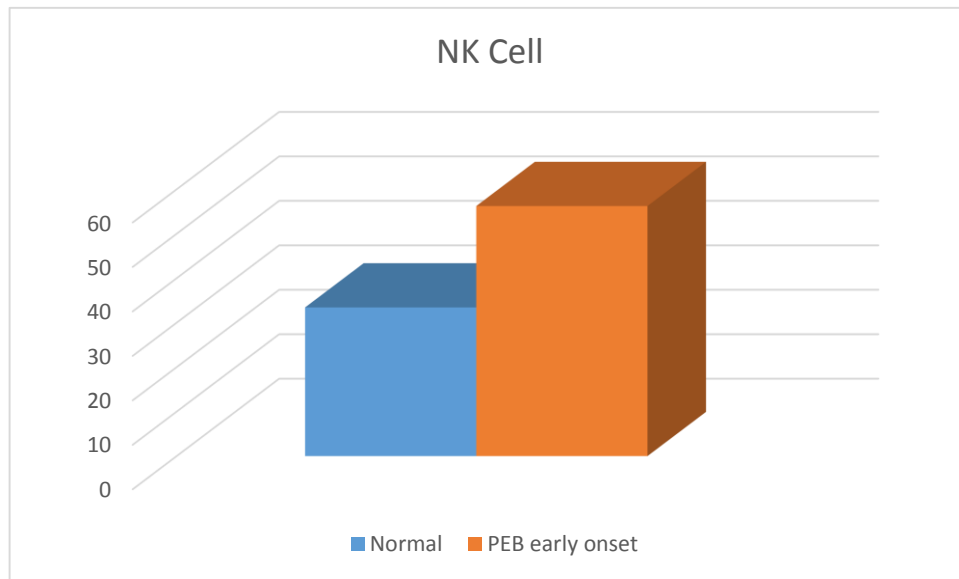
A.Ekspresi sel NK pada trofoblas kehamilan dengan PEB *early onset*

B.Ekspresi sel NK pada trofoblas kehamilan normal

Gambar 3. Ekspresi Sel NK pada Kehamilan Normal dan Kehamilan dengan PEB *early onset*

Dengan menggunakan metode penghitungan sebaran sel NK (berwarna coklat kemerahan) sel trofoblas pada jaringan trofoblas, maka didapatkan hasil rerata sebaran ke trofoblas per μm^2 jaringan trofoblas seperti tertera pada Tabel 6. Distribusi sel NK tampak lebih banyak pada plasenta PEB *early onset* ($56.23/\mu\text{m}^2$), dibandingkan dengan normal ($33.43/\mu\text{m}^2$).

Pada grafik tampak bahwa sel NK pada kelompok PEB *early onset* mempunyai puncak lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok normal (Gambar 11).



Gambar 4. Distribusi Rerata sel NK Pada Kelompok Normal Dan Kelompok PEB *early onset*

Analisis variabel sel NK dengan menggunakan uji distribusi normal (Kolmogorov-Smirnoff) pada kelompok PEB *early onset* dan kelompok normal terdistribusi secara normal dimana nilai $p=0.99$ ($p>0.05$) untuk PEB *early onset* dan $p=0.71$ ($p>0.05$) untuk kelompok normal. Lampiran 11.

Tabel 6. Uji Beda Rerata (Uji Bivariate) sel NK pada Jaringan Trofoblas Kelompok PEB *early onset* dan Kelompok Normal

Variabel	Kelompok	N	Mean	SD	Nilai p
NK Cell	PEB <i>early onset</i>	18	56.23	11.16	0.00
	Normal	18	33.43	17.75	

Nilai signifikan : $p<0.05$

Analisis uji t dengan menggunakan tingkat kepercayaan 95%, $\alpha=0,05$, membuktikan bahwa sel NK antara kelompok normal dan kelompok PEB *early onset* terdapat perbedaan yang signifikan dimana terdapat nilai $p=0.00$ (<0.05).Lampiran 8.

4. Uji Multivariate

Dari hasil analisis dengan menggunakan uji t test didapatkan bahwa variable tekanan darah systole, tekanan darah diastole, SGOT, trombosit, GDS , ekspresi HLA-E dan ekspresi sel NK pada trofoblas dapat meningkatkan kejadian PEB *early onset*. Meskipun tidak semua hasil dari analisis memiliki kemaknaan secara statistik. Sehingga untuk mengetahui variable yang benar berpengaruh pada kejadian PEB *early onset* dilakukan uji multivariate pada variable tersebut.

Tabel 7. Uji multivariate

No.	Variabel	Koefisien Regresi	t hitung	P
1.	Umur Kehamilan	-0.01	-4.55	0.00 *
2.	Tekanan darah diastole	-0.00	-1.74	0.09
3.	Kadar Hemoglobin	0.00	2.88	0.01 *
4.	SGOT	-0.00	-0.97	0.34
5.	HLA_E	0.00	-0.73	0.47
6.	Sel NK	0.02	4.21	0.0 *
F _{hitung} : 80.51 Nilai signifikan : $p<0.05$				
R ² : 0.97				
Sig < 0.05				

Pada tabel 8 hasil analisis regresi linier terhadap variabel tekanan darah systole, tekanan darah diastole, SGOT, trombosit, GDS, ekspresi HLA-E dan ekspresi sel NK didapatkan ada 3 faktor yang paling bermakna menentukan kejadian PEB *early onset* yaitu variabel umur kehamilan, kadar Hemoglobin dan

ekspresi sel NK dimana nilai $p < 0.05$. Dapat dikatakan bahwa dengan adanya penurunan kadar Hemoglobin, peningkatan SGOT dan adanya kenaikan ekspresi sel NK pada trofoblas dapat meningkatkan angka kejadian PEB *early onset*. (Lampiran 10)

B. Pembahasan.

Sampel pada penelitian ini dilakukan dengan cara pengambilan jaringan plasenta, sebanyak 18 sampel penderita preeklamsia berat dan 18 sampel kehamilan normal kemudian dilakukan pengecatan dengan teknik immunohistokimia *staining* dilakukan dengan menggunakan antibodi monoklonal anti human HLA-E dan sel NK(CD94) kemudian diamati ekspresinya secara mikroskopik pada 9 lapang pandang. Pada kelompok kehamilan normal, pengambilan sampel jaringan plasenta tidak dihomogenkan dengan umur minggu atau umur kehamilan terjadinya tetapi saat persalinan berlangsung.

Setelah data terkumpul maka dilakukan analisis data dengan menggunakan alat bantu statistik SPSS versi 17, yang mana hasil dari uji t mengenai perbedaan HLA-E dan NK cell antara kelompok normal dengan kelompok preeklamsia berat terdapat perbedaan yang bermakna ($p = 0,000 < 0.05$). Pada kehamilan normal ekspresi HLA-E mempunyai nilai rerata 17,74 lebih tinggi dibanding kehamilan PEB *early onset* yaitu 3,14, sedangkan NK cell kehamilan normal lebih rendah dibanding NK cell preeklamsia. Mallia *et al* (2012) dalam penelitiannya menyatakan bahwa HLA-E memiliki peran sangat penting dalam perkembangan kehamilan. Locus HLA-E merupakan locus dengan densitas gen tinggi sehingga mengakibatkan pembentukan antigen. Antigen berperan penting dalam proses

kehamilan yaitu dari pembentukan gamet hingga tahap perkembangan yang lengkap. Antigen kelas I diekspresikan pada trofoblas yang dapat membantu janin untuk menghindari serangan sistem imun ibu dan berperan pada tempat terjadinya hubungan fetoplasenta dengan cara melalui reseptor CD94/NKG2A melalui sel NK yang menyebabkan proses kehamilan berlangsung normal. Pernyataan ini didukung oleh Fukui *et al* (2012) bahwa Natural Killer cell (NK Cell) memiliki peran penting terhadap proses kehamilan. Sel NK melalui reseptor CD94/NKG2C dapat menyerang sel target. Sel NK pada uterus dapat diaktifkan melalui reseptor CD94/NKG2C yang dapat mengikat HLA-E telah terbukti berhubungan dengan proses imunologi pada preeklampsia. Sekali saja sel NK teraktivasi melalui reseptor CD94/NKG2C yang berikatan dengan HLA-E, maka sel tersebut akan memproduksi sitokin Th1 yang menyerang trofoblas dan merusaknya sehingga janin akan mengalami penolakan didalam uterus (Bhalla *et al*, 2006)

Preeklampsia dikaitkan dengan tidak adanya invasi sitotrofoblas plasenta ke dalam rahim. Telah terbukti bahwa invasi sitotrofoblas dipengaruhi oleh respon imun maternal dan berbagai sitokin yang disekresikan oleh sel-sel imun. Bukti yang ada menyarankan bahwa protein ini mungkin memainkan peran penting dalam perlindungan trofoblas dari respon imun maternal, sehingga memungkinkan sel-sel semiallogenik ini untuk menyerang uterus tanpa hambatan. (Dagan, 2012).

Pada hasil analisis regresi diperoleh variabel luar yang mempengaruhi kehamilan preeklamsia secara signifikan adalah sistole dan sgot. Preeklampsia, adalah penyakit spesifik pada kehamilan didefinisikan sebagai terjadinya

hipertensi dan proteinuria pada wanita hamil setelah umur kehamilan 20 minggu, terjadi pada sekitar 2-8% dari kehamilan. Preeklampsia menurut American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) adalah hipertensi (tekanan darah sistolik ≥ 140 mmHg dan diastolik ≥ 90 mmHg) disertai proteinuria (≥ 30 mg/liter urin atau ≥ 300 mg/24 jam) yang didapatkan setelah umur kehamilan 20 minggu. Preeklampsia berat melibatkan kelainan sistem multiorgan, pasien yang terkena mungkin memiliki keluhan seperti sakit perut, disfungsi sistem saraf pusat (sakit kepala, ensefalopati, penglihatan kabur, atau kebutaan), edema paru, hipoksia atau sebagai manifestasi lain dari kebocoran kapiler (Elosha *et al*, 2012).

Selama proses kehamilan akan berkembang menjadi suatu sistem imun yang melakukan adaptasi terhadap antigen janin dengan maternal melalui 2 sistem yaitu sistem imunitas humoral dan sistem *cell mediated immunity*. Cell mediated immunity akan menghasilkan sel T helper yaitu Th1 dan Th2 yang akan sangat berperan dalam aktifitas sel-sel makrofag untuk mengaktifkan sel NK dengan sitokin-sitokin dalam proses kehamilan. Penyimpangan adaptasi pada sistem imunitas akan menyebabkan suatu maladaptasi dari sistem imun maternal yang secara klinis akan menyebabkan preeklampsia berat (Saito *et al*, 2010).

Maladaptasi sistem imun maternal akan menyebabkan peningkatan aktivitas dari sel-sel leukosit sehingga akan mempengaruhi perkembangan fetoplasenta, invasi trofoblas ke dalam miometrium dan reaksi imunologi dan secara klinis akan menyebabkan Preeklampsia berat. (Moffet *et al*, 2014).

Preeklampsia berat merupakan penyakit pada kehamilan dan bentuk yang klasik didapatkan kebanyakan pada primipara. Penyakit tersebut diduga memiliki dasar imunologis namun belum jelas diketahui, hal ini timbul dari adanya insufisiensi pada sirkulasi uteroplasenta yang memicu kaskade sindroma maternal, yang diawali dengan adanya kerusakan pada plasentasi di awal kehamilan. Bukti penelitian genetik dan leukosit desidua terisolasi menyatakan bahwa sel NKdesidua ikut berperan penting dalam perkembangan dan modifikasi arteri di permukaan sirkulasi uteroplasenta. Peran penting terhadap plasentasi yang normal dapat menjadidasar pemahaman penyebab patologi pada plasenta yang terjadi dalam preeklampsia berat (Yagel *et al*, 2008).

Sel NK mengekspresikan sitokin dan faktor angiogenik, yang mempunyai fungsi ganda yaitu menghambat sel NK melalui reseptor CD94/NKG2A dan mengaktifkan melalui reseptor CD94/NKG2C, ketidakseimbangan tersebut dapat menyebabkan kegagalan kehamilan seperti pada preeklampsia berat (Fukui *et al*, 2012)

HLA-E meningkat signifikan pada jaringan plasenta saat kehamilan trimester pertama, terutama pada membran ekstravilli, sedangkan pada bagian membran intravilli terjadi pada kehamilan trimester akhir. Jenis ekspresi tersebut sesuai dengan teori bahwa HLA-E kemungkinan berperan dalam proteksi janin. Hal tersebut mungkin berkaitan dengan struktur non imun maupun fungsi imun pada tempat terjadinya hubungan fetomaternal. Bukti terkini menunjukkan fungsi imun dimana HLA-E melindungi janin dari sel NK maternal pada uterus, yang jumlahnya sangat banyak di dalam sel yang menginvasi trofoblas. Oleh karena itu,

HLA-E merupakan faktor penting untuk terjadinya komplikasi kehamilan seperti kejadian abortus berulang dan preeklampsia, pertumbuhan janin terhambat, (Mallia, 2012)

Pada awal kehamilan terdapat peningkatan jumlah leukosit dalam sel desidua termasuk sel *Natural Killer* (NK) dan sitokin. Sel NK uterus yang diisolasi pada trimester pertama desidua mensekresikan banyak proangiogenik *Vascular Endothel Growth Factor* (VEGF), dan *Tissue Growth Factor β -1* (TGF β -1). Sel NK uterus merupakan sumber utama dari faktor angiogenesis pada permukaan maternal fetal selama awal kehamilan dan berperan penting untuk remodeling vaskuler (Bambang, 2013).

Preeklampsia terdiri atas stadium preklinik yang ditandai dengan buruknya plasentasi yang mengakibatkan kegagalan untuk remodelling arteri spiralis yang bertanggungjawab pada sirkulasi uteroplasental sehingga terjadi hipoksia plasenta. Pertumbuhan janin terhambat, preeklampsia hanya dapat dideteksi pada stadium klinis hal ini dikarenakan tindakan pengambilan sampel dari jaringan trofoblas ibu merupakan tindakan invasif dan berbahaya pada keadaan kehamilan yang sedang berlangsung. Jika klinisi mampu mengetahui perkembangan preeklampsia sebelum pada stadium pre klinik, sel NK mungkin dapat menjadi penanda potensial untuk memprediksi preeklampsia sebagaimana faktor lainnya seperti sFlt1 dan PlGF. (Cuningham, 2010)

Penelitian lain melaporkan bahwa kadar NKG2A dan NKG2C pada sel NK d pembuluh darah pada penderita preeklampsia lebih tinggi secara signifikan dibanding pada wanita hamil yang normal. Oleh karena itu, fungsi dan ekspresi dari

penand permukaan pada sel NK trofoblas dan pembuluh darah berbeda sehingga sel N pada pembuluh darah dapat digunakan sebagai prediktor preeklampsia berat untu tujuan diagnostik (Bachmayer, 2009).

Hubungan antara sel NK endometrium dan sel NK pada pembuluh darah. Dilaporkan bahwa kadar sel NK pembuluh darah tidak mencerminkan perubahan kadar sel NK trofoblas sehingga dapat digunakan untuk tujuan diagnostik untuk mendeteksi kegagalan reproduksi (Park, 2010)

Janin mengekspresikan gen ayah yang bersifat semi alogenik sebagai bentuk kompensasi terhadap ibunya. HLA-E merupakan molekul dengan polimorfisme rendah dan ekspresinya terbatas pada trofoblas ekstravilus, Ekspresi HLA-E yang berkurang tersebut menjadikan trofoblas invasif lebih mudah terkena serangan dari sel NK yang berikatan melalui reseptor CD94/NKG2C, sehingga akan menghambat invasi trofoblas pada tempat terjadinya hubungan sirkulasi uteroplasenta dan mengakibatkan invasi trofoblas yang dangkal dan rapuh serta penyempitan arteri spiralis yang dapat menyebabkan terjadinya preeklampsia (Chaouat *et al*, 2007).

C. Keterbatasan Penelitian

1. Ekspresi protein sel NK dan HLA-E mengalami penurunan pada abortus berulang, kematian janin dalam rahim, pertumbuhan janin terhambat keganasan, inflamasi, Infertilitas dan kelainan lainnya, tidak spesifik untuk Preeklampsia saja .
2. Ekspresi HLA-E meningkat secara signifikan pada trimester pertama dan akan menurun pada trimester ketiga sementara dalam penelitian ini terbatas hanya pada trimester ketiga hal ini dikarenakan tindakan pengambilan sampel dari jaringan trofoblas ibu merupakan tindakan invasif dan berbahaya pada keadaan kehamilan yang sedang berlangsung.
3. Penelitian ini tidak membandingkan sel NK pada trofoblas dengan sel NK pada pembuluh darah yang dilakukan pada trimester pertama dimana sel NK pada pembuluh darah tidak menggambarkan sel NK pada trofoblas sehingga tidak dapat dijadikan sebagai prediktor.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Ada perbedaan yang sangat bermakna ekspresi HLA-E di trofoblas antara kehamilan normal dan kehamilan dengan PEB *early onset*. Ekspresi HLA-E pada PEB *early onset* lebih rendah dibandingkan kehamilan normal.
2. Ada perbedaan yang sangat bermakna ekspresi sel NK di trofoblas antara kehamilan normal dan kehamilan dengan PEB *early onset*. Ekspresi sel NK pada PEB *early onset* lebih tinggi dibandingkan kehamilan normal.

B. Saran

Untuk penelitian selanjutnya:

1. Perlu dilakukan penelitian untuk ekspresi HLA-E dan sel NK pada PEB *early onset* dengan kehamilan normal pada subyek penelitian yang lebih banyak untuk mendapatkan rerata hasil yang lebih bervariasi, sehingga bisa mewakili seluruh faktor risiko PEB *early onset*.
2. Perlu dilakukan penelitian kadar serum HLA-E dan sel NK di pembuluh darah pada PEB *early onset* dengan kehamilan normal pada subyek penelitian yang lebih banyak dan pada waktu penelitian yang lebih panjang yaitu dari awal kehamilan sampai dengan persalinan agar dapat

menerapkan hasil penelitian pada ibu hamil, sehingga pada akhirnya dapat digunakan sebagai prediktor dalam pencegahan PEB *early onset*.

3. Perlu dilakukan penelitian untuk membandingkan Ekspresi HLA-E dan sel NK di trofoblas dengan kadar serum HLA-E dan sel NK pada pembuluh darah pada PEB *early onset* dengan kehamilan normal sehingga dapat digunakan sebagai prediktor dalam pencegahan PEB *early onset*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed A, Rahma W, 2011. *Is Inflammation the cause of Preeclampsia*, Biochen Soc trans 39 :1619-1627
- Anna-Karin Wikstro", Anders Larsson, Ulf J. Eriksson, Peppi Nash, Solveig Nordén-Lindeberg, and Matts Olovsson, 2007. *Placental Growth Factor and Soluble FMS Like Tyrosine Kinase-1 in Early-Onset and Late-Onset Preeclampsia* vol 9, 13681372
- Antsaklis A, Daskalakis G, Souka AP, Basayiannis K. 2010. Uterine Artery Doppler in the Prediction of Preeclampsia and Adverse Pregnancy Outcome. *Donald School J of Ultrasound in Obs and Gyn.* 4(2):117–122.
- Arusyak 2009, *Investigation of Risk Faktor for Preeclampsia Development Among Reproductive Age Women Living in Yerevan, Armenia : A Case-Control Study*, College of Health Sciences American University of Armenia
- Bachmayer N, Sohlberg E, Sundstrom Y, Hamad RR, Berg L, Bremme K, 2009. *Women with preeclampsia have altered NKG2A and NKG2C receptoe exspression on peripheral blood natural killer cell*. Am J Reprod immunol 62 : 147 -157
- Bambang. E. W. 2013. Thesis. *Kadar Soluble FMS Like Tyrosine Like-1 (sFlt-1) dan Vasculer Endothelial Growth Factor (VEGF) pada usia kehamilan 8-20 minggu dengan resiko Preeklampsia*, hal 13-24.
- Barton, J.R., Sibai, B.M. 2008. *Prediction and prevention of reccurent preeclampsia*, Clinical expert series obstetric and gynecologic, 112:359-372

Bhalla A, Stone P, Liddell H, Zanderigo, Chamly L, 2006. *Comparison of the expression of Human Leukocyte Antigen (HLA) - G and HLA - E in women with normal pregnancy and those with recurrent miscarriage*, Society for Reproduction and Fertility, 131 : 583 - 589

Borrego F, Masilamani M, Marusina AI, Tang X, Colligan JE, 2006. *The CD94/NKG2 Family of receptors from Molecules and cell to Clinical relevance*, Immunol Res, 35 : 263 -278

Cartwright JE, Fraser R, Leslie K, Wallace AE, James J. 2010. *Remodelling at the Maternal – Fetal Interface : relevance to Human Pregnancy Disorder*. Society for Reproduction Fertility 140 : 803 – 813.

Carty DM, Delles C, Dominic AF. 2010. *Preeclampsia and Future Maternal Health*. J Hypertens, 28: 1349-1355.

Chaouat G, Ledee BN, Dubanchet S, 2007. *Immune cell in Uteroplacental Tissue throughout pregnancy : a brief review*. Reproductive Biomedicine Online 14 : 256 – 266

Christopher J. Robinson, Mark C. Alanis, Carol L. Wagner Bruce W. Hollis, Donna D. Johnson 2010. *Plasma 25-hydroxyvitamin D levels in early-onset severe preeclampsia* 203:366.e1-6

Cnossen J.S., Leeflang M.M., de Haan E.E., Mal B.W., van der Post J.A., Khan K.S., ter Riet G. 2007, *Accuracy of body mass index in predicting preeclampsia: bivariate meta-analysis*, BJOG, Vol 114, p 1477-1485

Cunningham, FG, Gant, Leveno, Gilstrap. 2010. *Hypertensive Disorder in Pregnancy ; Williams Obstetric, 23rd edition*, Appleton & Lange New York. 761.

- Dagan AL, Christine B, Kathleen M, Kristen P, Tinnakorn C, Roberto R, and Carole O, 2013. The maternal HLA-G 1597DC null mutation is associated with increased risk of pre-eclampsia and reduced HLA-G expression during pregnancy in African-American women. *Molecular Human Reproduction*, Vol.19, No.3 pp. 144–152
- Decherney I, Nathan L, Laufer NI, Ashley S, Roman A. 2013. Late pregnancy complications, hypertension in pregnancy. Current diagnosis and treatment obstetrics and gynecology. 11th ed.. New York: McGraw Hill, Lang ;p. 250, 454
- Dimitriadis E, Nie G, Hanna NJ, Paiva P, Salamonsen LA. 2010. *Local Regulation of Implantation at the Human Fetal – Maternal Interface*. International Journal of Developmental Biology 54 : 313 – 322.
- Elosha E, Chike N, Marquetta, 2012. Review Article Preeclampsia. *Hindawi Publishing Corporation Journal of Pregnancy*. Volume 2012, Article ID
- Fukui A, Yokota M, Funamizu A, Nakamura R, Fukuhara R, Yamada K., 2012. *Changes of NK cell in preeclampsia*, Am J Reprod Immunol, 67: 278-286
- Grill S, Rusterholz C, Zanetti-Dällenbach, Tercanli S, Holzgreve W, Hahn S and Lapaire O, 2009. Potential markers of preeclampsia. *Reproductive Biology and Endocrinology* doi:10.1186/1477-7827-7-702,
- Guleria G, Sayegh MH, 2007. *Maternal Acceptance of Fetus : True Human Tolerance*. The Journal of Immunology 178 : 3345 – 3351.
- Hladunewich M., Karumanchi SA, Lafayette R. 2007. Pathophysiology of the Clinical Manifestations of Preeclampsia, *Clin J Am Soc Nephrol*, Vol. 2, p 543-549.

- Hviid TVF. 2006. *HLA-G in Human Reproduction: Aspects of Genetics, Function, and Pregnancy Complication*, Hum Reprod Update, 12.(3) : 209-232
- Huppertz and John C.P. 2008. Kindom, The placental and fetal membranes.in Edmonds D.K (ed). Dewhurst's Textbook of Obstetrics & Gynaecology seventh edition. New York; McGraw Hill; 67-96
- Hunt JS, Langat DK, McIntire RH, Morales PJ. 2006. *The Role of HLA-G in Human Pregnancy*, Reprod BiolEndocrinol. 4, (Suppl.1):S10
- Ishitani. A., Sageshima. N., Hatake. K. 2006. *The involvement of HLA-E and F in pregnancy*.journal of Reproductive Immunology 69 : 101 -113
- Jennifer U., Carbonnel M., Piconne O., Asmar R., Marc Ayoubi-Jean 2011, *Preeclampsia : pathophysiology, diagnosis, and management*, Vascular Health and Risk Management, Vol. 7, p 467-474
- Karumanchi S.A,Lindheimer M.D.2008."Preeclamsia Pathogenesis "Triple A Rating"Autoantibodies and antiangiogenic factors "dalam hypertensi.51:991-992.
- Khan KS, Wojdyla D, Say L, Gulmezoglu AM, Van look PF, 2006 :*WHO Analysis of cause of maternal death : A systematic review*, 367 : 1066-1074.
- Lin A, Yan WH, Xu HH, Gan MF, Cai JF, Zhu M, Zhou MY. 2007. *HLA-G Expression in Human Ovarian Carcinoma Counteracts NK Cell Function*,Annals of Oncology.18 : 1804-1809

Mallia J, Das K, Maitra A, 2012. *Role of HLA in Pregnancy*, Int J Hum Genet 12(1) : 33 – 36

Mandy J. Bell. 2010. A Historical Overview of Preeclampsia-Eclampsia. *J Obstet Gynecol Neonatal* September: 39(5): 510-518

Matsubara. K., Y. Matsubara, dan M. Ito. 2009. *The Utility of Vascular Dysfunction Studies in the Prediction and Prevention of Preeclampsia : Historical Review* 6, 163-169

Moffett A, Colucci, F., 2014. Uterine NK Cells: Active Regulators at the Maternal-Fetal Interface. *Journal of Clinical Investigation*. Vol.124, No.5, hal 1872-1879.

Moffet A, Hiby SE, 2007. *How does the maternal immune system contribute to the development of preeclampsia plasenta*, 28 : 51 – 56

Murphy SP., Apprs R., Fernando R., Garner R., Ahad T, Moffet A, 2009. *Human Leucocyte Antigen (HLA) Exspression of Primary Trophoblast Cell and Placental cel lines determined using single antigen beads to Characterize Allotype Specifities Of anti HLA antibodies*, Immonology, 127 : 26-39

Noori, M., Savvidou, M., Williams, D., (2007), *Endothelial factors dalam Pre-eclampsia: Etiology and Clinical Practice*: 62.

Padmini, E.. (2011). HSP70 Expression and its role in preeclamptic stress, *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*, 48 : 243 – 255

- Park DW, Lee HJ, Park CW, Hong SR, Kwak Kim, Yang KM. 2010. *Peripheral blood NK cell refle changes in desidual NK cell refle changes desidual NK cell in woment in Recurrent miscarriage*. Am.J Reprod Immunol 63 :173-180
- Robert JM. 2005. Preeclampsia : Recent Insight. *AHA Journal* 2005;46:1243-1249.
- Rustam S,Bambang E.W, 2013.*Luaran Maternal pasien preeklampsia berat di Rumah sakit dr.Moewardi Surakarta pada tahun 2012 pada program jaminan persalinan*
- Saito S, Nakashima A, Shina T, Ito M, 2010. *Th1/Th2/Th17 and regulatory T cell paradigm in pregnancy*. Am J Reprod Immununol 63 : 601 – 610
- Sargent I, Borzychowski A, Redman C, 2006. *Immunoregulation in Normal Pregnancy and preeclampsia*, Reproductive BioMedicine Online, 13 : 680 -686
- Sargent, I.L., A.M. Borzychowski, and C.W.G. Redman. 2007. NK Cell and Preeclampsia.*Journal of Reproductive Immunology*. 76, 40-44.
- Servitje E, Lopez N, Olson D, 2010. *An immunological insight of preeclampsia*, *Human Reproductiun Update* Vol. 16 No 5 : 510 – 524
- Sharp AN, Heazell AE, Crocker IP, Mor G. 2010. Placental Apoptosis in Health and Disease. *Am J Reprod Immunol*. 64(3):159–169.
- Shiina T, Hosomichi K, Inoko H, Kulski JK. 2009. *The HLA Genomic Loci Map: Expression, Interaction,Diversity and Disease*, *J. Hum Genet*, 54 : 15-3

- Sulistiyowati S. (2010). Disertasi: *Ekspresi Protein MHC Klas Ib (HLA-G & Qa-2) yang Rendah Terhadap Profil Hsp-70, VCAM-1, dan MMP-9 pada Preeklampsia*. Penelitian Pada Ibu Hamil dan Hewan Coba Mus Musculus dengan Model Disfungsi Endotel, 2:26
- Sumapraja K. 2008. Dasar – dasar Immunologi dalam bidang kebidanan. Dalam : Saifuddin A.B., Rachimhadhi T., dan Wiknjosastro G.H Ilmu Kebidanan Sarwono Prawirohardjo. Jakarta: Yayasan Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo. Pp: 98-111
- Tripathi P, Naik S, Agrawal S. 2007. *Role of HLA-G, HLA-E and KIR2DL4 in Pregnancy*, *Int J Hum Genet*, 7 (3) : 219-233
- Yagel C, Goldman D, 2007. *Current knowledge on natural killer cells, pregnancy and preeclampsia*, *Reproductive BioMedicine* 2 : 227-231
- Van der Graaf AM, Wiegman MJ, Posch T, Zeeman G. 2013. Endothelium-dependent Relaxation and Angiotensin II Sensitivity in Experimental Preeclampsia. *Journ Pone* . 8(11):1–15.
- Wang A., Rana S., Karumanchi S.A. 2009, *Preeclampsia: The Role of Angiogenic Factor in Its Pathogenesis*, *Am Physiol Soc*, Vol 24, p 147-158
- Williams, D., (2007), *Endothelial factors dalam Pre-eclampsia: Etiology and Clinical Practice*: 62.
- Winfred W. Williams, Jr. 2005. *Case 38-2005: A 29-Year Old Pregnant Woman with the Nephrotic Syndrome and Hypertension*. *New England J. Of Medicine*, case records of the Massachusetts general hospital: 2593